



EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Indrek Adler

**LÄÄNEMERES KASVATATUD SÖÖDAVA
RANNAKARBI (*Mytilus edulis/trossulus* L.)
VÄÄRINDAMISE VÕIMALUSED**

**VALORIZTION OF BIOMASS FROM BLUE MUSSEL
(*Mytilus edulis/trossulus* L.) CULTIVATED IN THE BALTIC
SEA**

Magistritöö
Kalanduse ja rakendusökoloogia õppekava

Juhendajad: Eesti Mereinstituut, Mereökoloogia professor Jonne
Kotta, *PhD*
Eesti Maaülikool, lektor Katrin Kaldre, *PhD*
Eesti Maaülikool, dotsent Ivi Jõudu, *PhD*

Tartu 2021



Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Magistritöö lühikokkuvõte	
Autor: Indrek Adler		Õppekava: Kalandus ja Rakendusökoloogia	
Pealkiri: Läänemeres kasvatatud söödava rannakarbi (<i>Mytilus edulis/trossulus</i> L.) väärindamise võimalused			
Lehekülgi: 62	Jooniseid: 10	Tabeleid: 11	Lisasid: 0
Osakond / Õppetool: Vesiviljeluse õppetool ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: B402 Juhendaja(d): Jonne Kotta PhD, Katrin Kaldre PhD, Ivi Jõudu PhD Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu 2021			
<p>Läänemere perspektiivsemaks vesiviljeldavaks karbiliigiks on söödav rannakarp. Eesti rannikumere väikesest soolsusest tingituna on siinsete söödavate rannakarpide mõõtmed väiksemad kui Läänemere lääneosas või Põhjameres. Selleks, et saaksime siin edukalt karbikasvatusega tegeleda, on vajalik meie keskkonda sobilike kasvatusemeetodite arendamine ning vaja tegeleda toote väärindamisega, et antud vesiviljelus oleks jätkusuutlik</p> <p>Läänemere keskkonnas on karbi biomassi väärindatud väga vähe. Käesoleva töö eesmärk on välja töötada söödava rannakarbi biomassist saadava kuivmassi eraldamise meetoodika, mis oleks toiduainetetööstuses rakendatav ja majanduslikult tasuv.</p> <p>Eesmärgi saavutamiseks püstitati järgmised uurimisülesanded:</p> <ol style="list-style-type: none">1) Anda teoreetiline ülevaade rannakarbi kasvatamise ja väärindamise võimalustest.2) Viia läbi kuivaine tootmise katsed, mille käigus hinnatakse:<ol style="list-style-type: none">a) Eeltöötlemata karbi lihamassi eraldamise efektiivsust karbi kestast ja selle tootmises kasutamise potentsiaali.b) Filtreerimise mõju proteiini saagikusele.c) Tava- ja külmuivatusmeetodite võrdlus.			

Väärindamisega seotud eesmärkide saavutamiseks viidi läbi laboratoorsed katsed karbiliha eemaldamiseks ja kuivatamiseks, kasutades selleks kuivatamist termokapis ja lüofilisaatorit meetodite võrdluseks. Karbiliha eraldamisel analüüsiti filtreerimise mõju.

Katseteks kasutati Läänemeres kasvanud rannakarbi *Mytilus edulis* ja *M. trossolus* hübriidi.

Katsete tulemusena selgus, et kuivmassi eraldamine värskest või külmutatud karbist on lihtsate vahenditega teostatav. Lihtsa purustamise ja setitamisega õnnestus eraldada märkimisväärne kogus kuivainet, mille valgusisaldus on kõrge. Ühtlasi sai selgeks, et filtreerimine ei ole otstarbekas, sest valgukadu on erakordselt suur. Lisaks teeb filtreerimine kuivaine eraldamisprotsessi keerukaks ja kulukaks, mida kuivatamisel säästetud energiakulu tõenäoliselt ei kompenseeri.

Katse käigus õnnestus leida meetod, mis oleks töönduslikult rakendatav ega vajaks ülemäära keerulist ja kallist masinaparki. Karbimassi töönduslikuks väärindamiseks tuleks kasutada ära nii jääkmaterjal kui eraldatud kuivmass.

Keskmiselt saadi 100 grammist rannakarpidest 7,56 grammi kuivainet, mille keskmine valgusisaldus oli 45%. Rannakarbi märgmassist on keskmiselt võimalik eraldada 6,32% valku. Katses kasutati lihtsat ja tööstusele skaleeritavat tehnoloogiat, mis võimaldas rannakarbi märgmassist eraldada 3,16% puhast valku.

Kõrvalsaadusena jääb karbist 43,65% karbipuru, mis on valdavalt kest, kuid sisaldab 4,74% valku. Jahvatamisjärgne peenfraktsioon ja valgusisaldus võimaldab materjalist teha linnutoitu.

Märksõnad: söödav rannakarp, rannakarbi väärindamine, roheline vesiviljelus, alternatiivne proteiin

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Abstract of Master's Thesis	
Author: Indrek Adler		Curriculum: Fisheries & Applied Sciences	
Title: Valorization of biomass from blue mussel (<i>Mytilus edulis/trossulus</i> L.) cultivated in the Baltic Sea			
Pages: 62	Figures: 10	Tables: 11	Appendixes: 0
Department / Chair: Aquaculture chair Field of research and (CERC S) code: B402 Supervisors: Jonne Kotta PhD, Katrin Kaldre PhD, Ivi Jõudu PhD Place and date: Tartu 26.05.2021			
<i>The most promising aquaculture species in the Baltic Sea is the edible mussel. Due to the low salinity of the Estonian coastal sea, the size of edible mussels is smaller than in the western Baltic or the North Sea. In order to be able to successfully farm shellfish here, it is necessary to develop farming technologies that are suitable for our environment, and to process the product so that this aquaculture is sustainable.</i>			
<i>In the Baltic Sea environment, there is very little processing of shellfish biomass. The aim of this work is to develop a methodology for the extraction of dry mass from edible mussel biomass that is applicable and economically viable for the food industry.</i>			
<i>To achieve this objective, the following research objectives were set:</i>			
<i>1) To provide a theoretical overview of the possibilities of mussel cultivation and processing.</i>			
<i>2) To carry out experiments on the production of dried mussels in order to evaluate the theoretical and theoretical background of the mussel production:</i>			
<i>(a) The efficiency of separating the unprocessed mussel pulp from the mussel shell and its potential for use in production.</i>			
<i>(b) Effect of filtration on protein yield.</i>			
<i>(c) Comparison of conventional and freeze-drying methods.</i>			

To achieve the objectives of the evaluation, laboratory tests were carried out on the removal and drying of mussel meat. This was done using drying in a thermocup and a comparison with the freezing method using a lyophilizer. The effect of filtration was analysed for the separation of the carbohydrate meat.

*A hybrid of the Baltic mussel *Mytilus edulis* and *M. trossolus* was used for the experiments.*

The experiments showed that the separation of dry matter from fresh or frozen mussels can be achieved by simple means. Simple crushing and sedimentation succeeded in extracting a significant amount of dry matter with a high protein content. It also became clear that the use of filtration is not practical because the protein loss is extremely high. In addition, filtration makes the process of dry matter separation more complex and a cost that is unlikely to be compensated by the energy saved in drying.

The experiment has succeeded in finding a method that is operationally feasible and does not require an overly complex and expensive machine park. Both the residual material and the separated dry matter should be used for the operational refining of the mussel pulp.

On average, 7.56 grams of dry matter were obtained from 100 grams of mussels, with an average protein content of 45%. On average, 6.32% protein can be extracted from the wet mass of mussels. A simple and industrially scalable technology was used in the experiment, which allowed the extraction of 3.16% of pure protein from the mussel wet mass.

As a by-product, 43.65% of the shell remains as shell fragments, which are predominantly shell but contain 4.74% protein. The fine fraction and protein content after milling make the material a potential source of bird feed.

Keywords: Baltic blue mussel, valorization of blue mussel, sustainable protein, green aquaculture

SISUKORD

SISSEJUHATUS	8
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	11
1.1. Söödava rannakarbi süstemaatiline kuuluvus ja levik	11
1.1.1. Süstemaatiline kuuluvus	11
1.1.2. Ehitus	11
1.1.3. Paljunemine	13
1.1.4. Levik ja olulisus Läänemeres	14
1.2. Karbikasvatus maailmas ja levinuimad viljelusviisid.....	14
1.2.1. Kasvatamine	14
1.2.2. Parvekultuur.....	16
1.2.3. Köiskultuur	17
1.2.4. Põhjakultuur.....	17
1.2.5. 'Bouchot' kultuur.....	17
1.3. Keskkonnasäästlik karbikasvatus	17
1.4. Rannakarbi väärindamise võimalused inимtoiduks	18
1.4.1. Rannakarbi toitaineline väärtus	18
1.4.2. Rannakarbi kõrvalsaaduste kasutusvõimalused.....	19
1.4.3. Rannakarbi liha töötlemise võimalused pasteediks	21
1.4.4. Karbi kesta väärindamise võimalused	21
1.4.5. Lipiidide eraldamine ja kasutusvõimalused.....	22
1.4.6. Valkude eraldamise meetodid ja kasutusvõimalused	23
1.4.7. Kõrge molekulmassiga valgud.....	24
1.4.8. Madala molekulmassiga valgud.....	26
1.4.9. Karbi vedeliku potentsiaalsed kasutusvõimalused	29
1.4.9.1. Rannakarbi inhibiitori eraldamine (Hüpotaauriin)	29
1.4.9.2. Hüpotaauriini eraldamise meetoodika.....	30
1.4.10. Rannakarbi väärindamise võimaluste kokkuvõte	30
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	33
2.1. Katsetel kasutatav tooraine	33
2.2. Katseskeem	33

2.2.1	Katsematerjali analüüs.....	34
2.2.2	Katse ettevalmistus	35
2.2.3	Karbi purustamine ja lihamassi eraldamine.....	36
2.2.4	Filtreerimata lihamassi kuivatamine.....	36
2.2.5	Filtreerimine	38
2.3.	Keemilised analüüsid.....	39
2.3.1	Tuhasisalduse määramine	39
2.3.2	Kaltsiumisisalduse määramine	39
2.3.3	Valgusisalduse määramine	39
2.4.	Statistiline analüüs	40
3.1.	Rannakarbi koostis.....	41
3.1.1.	Rannakarbi liha proteiini-, tuha- ja kaltsiumisisaldus	41
3.1.2.	Rannakarbi kesta kaltsiumisisaldus	42
3.2.	Filtreerimata rannakarbi lihast valmistatud proteiinipulbri koostis.....	43
3.2.1.	Tulemused kuumkuivatuse meetodil	43
3.2.2	Tulemused külmuivatuse meetodil	43
3.3.	Filtreeritud rannakarbi lihast valmistatud proteiinipulbri koostis.....	44
3.4.	Valgu kadu dekanteerimisel ja filtreerimisel	45
3.5.	Rannakarbi majanduslik potentsiaal	48
4.	KOKKUVÕTE JA JÄRELDUSED	50
	KASUTATUD KIRJANDUS.....	52

SISSEJUHATUS

Vesiviljelus on kasvav tööstusharu kogu maailmas. Võrreldes põllumajandustootmisega on vesiviljelus efektiivsem ja aitab kaasa vähenevate kalavarude taastumisele ja taastootmisele. See toimub püügisurve vähendamise ja loodusliku taasasustamisega, mida paljud kalakasvatajad üle maailma teevad kas vabatahtlikult või kohustusliku panusena õiguse eest ekspluateerida looduslikke ressursse. Globaalsed püügimahud on olnud jätkusuutlikkuse piiril juba mõned aastakümned ning mitmed kalaliigid on seetõttu hävinemisohus või on liigi arvukus jõudnud kriitilise piirini. Vesiviljelusest tuleneva kaubakala osakaal on kasvanud aasta-aastalt ja on juba paljude liikide puhul suurem kui loodusest väljapüütavad kogused. Siiski on kalade viljelemine küll efektiivne, kuid keskkonnale koormav.

Kuigi vesiviljelust seostatakse sageli vee kvaliteedi halvenemise, invasiivsete liikide levimise ja oluliste rannikelupaikade hävitamisega, leidub üha enam tõendeid, et hästi kavandatud ja juhitud vesiviljelus - eriti karpide ja suurvetikate puhul - võib pakkuda ökosüsteemiteenuseid, sealhulgas elupaiku kaladele ja muudele meres elavatele organismidele. Karbi- ja vetikakasvatuse näol ongi tegemist uudsete jätkusuutlike ja keskkonda taastavate vesiviljelussuundadega. Merekarbid on filtreerijad ja eemaldavad keskkonnast sinna üha enam akumulerevaid toitaineid. Nende kasvatamine ei koorma keskkonda. Karbiliha on rikas valkude, omega-3 rasvhappe, magneesiumi, kaltsiumi, seleeni, raua, vitamiin B12 poolest. Nad on suure magneesiumi- ja kaaliumisisaldusega, tugevdades nii tarbija südant kui närvisüsteemi. Tegemist on väärtusliku proteiiniallikaga, mille kasutamine inimtoiduks on kasuks nii tervisele kui loodusele.

Euroopa rannakarpide turg on hinnanguliselt veidi alla 600 000 tonni, millest 500 000 tonni on kohalikku päritolu ja umbes 100 000 tonni rahvusvahelist päritolu (impordi ja ekspordi netosaldo). Rannakarpide populaarsus on riigiti erinev, kus *per capita* tarbimine varieerub vähem kui 200 grammist kuni 4 kilogrammini. (FAO, GLOBEFISH - Information and Analysis on World Fish Trade, 2021)

Euroopa rannakarbi üldtoodang saavutas 1990. aastate lõpus peaaegu 750 000 tonni ja on viimastel aastatel langenud umbes 550 000 tonnini. Maailma mastaabis on Euroopa rannakarpide peamine tootja, pakkudes üle kolmandiku kogutoodangust. Üle 90 protsendi kogu

lossitavast rannakarbikogusest pärines vesiviljelusest. *Mytilus edulis* ja *Mytilus galloprovincialis* on kaks peamist liiki, mida Euroopas korjatakse ja kasvatatakse. (FAO, GLOBEFISH - Information and Analysis on World Fish Trade, 2021)

Läänemere perspektiivsemaks vesiviljeldavaks karbiliigiks on söödav rannakarp. Tegemist on kahe karbiliigi *Mytilus edulis* ja *M. trossulus* hübriidiga (Wenne *et al.* 2020). Eesti rannikumere väikese soolsuse tõttu on siinsete söödavate rannakarpide mõõtmed väiksemad kui Läänemere lääneosas või Põhjameres. Selleks, et saaks edukalt karbikasvatusega tegeleda, on vajalik meie keskkonda sobilike kasvatusemeetodite arendamine ning lisaks on vaja tegeleda toote väärindamisega, et antud vesiviljelus oleks jätkusuutlik. Uuenduslike toodete ja tootmisliinide arendamine on väga oluline uute liikide kasvatamiseks ja turustamiseks, kuna käesoleval ajal ei osata Eestis kasvatuseliinidelt kogutud karpe efektiivselt kasutada. Eestis kasvatatud rannakarpide väikeste mõõtude tõttu on need inimeste toidulaual vähenõutud. Seetõttu on vaja otsida lahendusi ja leida võimalusi rannakarpide toiduks väärindamisel.

Läänemere keskkonnas on karbi biomassi väärindatud väga vähe. Inimtoiduks väärindamist ei ole palju uuritud ja selle kohta on vaid piiratud arvul teadustöid ja katseid. Käesoleva töö eesmärk on välja töötada söödava rannakarbi biomassist saadava kuivmassi eraldamise meetoodika, mis oleks toiduainetetööstuses rakendatav ja majanduslikult tasuv.

Eesmärgi saavutamiseks püstitati järgmised uurimisülesanded:

- 3) Anda teoreetiline ülevaade rannakarbi kasvatamise ja väärindamise võimalustest.
- 4) Viia läbi kuivaine tootmise katsed, mille käigus hinnatakse:
 - d) Eeltöötlemata karbi lihamassi eraldamise efektiivsust karbi kestast ja selle kasutamise potentsiaali tootmises.
 - e) Filtreerimise mõju proteiini saagikusele.
 - f) Tava- ja külmuivatusmeetodite efektiivsuse võrdlust.

Käesoleva magistritöö hüpoteesid on järgmised:

- Lihtsate võtetega on võimalik märkimisväärne osa lihamassist eemaldada
- Erinevate meetoodikate efektiivsus lihamassi eemaldamisel on erinev.

Väärindamisega seotud eesmärkide saavutamiseks viidi läbi laboratoorsed katsed karbiliha eemaldamiseks ja kuivatamiseks. Selleks kasutati kuivatamist termokapis ja külmutust

lüofilisaatoriga. Karbiliha eraldamisel analüüsiti filtreerimise mõju. Teisalt hinnati ka filtreerimise mõju kogu tööprotsessile ehk kas lisategevus, mis pikendab protsessi, võiks olla õigustatud. Filtreerimise efektiivsust hinnati nii kuivmassi kaalutise kui puhta valgus konsistentsi järgi. Lisaks valgule mõõdeti kaltsiumi ja tuha sisaldust tuvastamiseks mineraalide osakaalu erinevates kuivaine eraldamise etappides.

Magistritöö valmis Euroopa Merendus- ja Kalandusfondi (EMKF) meetme „Vesiviljeluse innovatsioonitoetus“ projekti „Karbikasvanduse lahenduste loomine kogu väärtusahela ulatuses“ (PRIA viitenumber 821020790007) raames.

Autor tänab Katrin Kaldret, Jonne Kottat ja Ivi Jõudut, Kristi Kernerit ja Marina Haldnat, kes olid abiks töö valmimisel.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1. Söödava rannakarbi süstemaatiline kuuluvus ja levik

1.1.1. Süstemaatiline kuuluvus

Karbid on liistaklõpuselised (*Bivalvia* ehk *Lamellibranchiata*), limuste klass, hõlmab umbes 25 000 liiki, enamik neist elab meres. Karpide pikkus on mõnest millimeetrist 1,35 meetrini, väikseimad on herneskarbid (*Pisidium*) ja suurim suur rõõneskarp (*Tridacna gigas*).

Söödav rannakarp (joonis 1) on domineeriv põhjaorganism Läänemere kivistel põhjadel, moodustades suure osa kogu rannikumere loomsest biomassist (Kautsky 1982, Kautsky *et al.* 1990). Tegemist on kahe karbiliigi *Mytilus edulis* ja *M. trossulus* hübriidiga (Wenne *et al.* 2020). Eesti merevees leidub ka teisi karbiliike: balti lamekarpi (*Macoma baltica*), liiva uurikkarpi (*Mya arenaria*) ja südakarpi (*Cardium*), mageveekogudes leidub jõekarbi (*Unio*), järvekarbi (*Anodonta*), keraskarbi (*Sphaerium*) ja herneskarbi (*Pisidium*) perekonna liike. Suuremates järvedes ja jõgedes võib leida tulnukliiki - tavalist rändkarpi (*Dreissena polymorpha*), ja paksukojalist jõekarpi (*Unio crassus*), mis on looduskaitse II kategooria liik.

1.1.2. Ehitus

Karpidel on kahekülgne (bilateraalne) sümmeetria, kahest poolmest koosnev lame lubikoda ja hästi arenenud jalg; pea pole eristunud, puuduvad lõuad ja hõõrel ehk raadula (joonis 1). Külgedelt piiravad keha kaks nahakurdu (mantlikurrud), mis moodustavad koja. Kojapoolmeid ühendavad selgmiselt tugevad sulgurlihased (lukuside) ning enamasti ka hambakestest ja süvenditest koosnev lukk. Kojal eristatakse välimist (katiskiht ehk periostrakum, koosneb valkainest konhioliinist), keskmist (portselankiht ehk ostrakum) ja sisemist kihti (pärlmutterkiht ehk hüpostrakum; keskmine ja sisemine kiht koosnevad peamiselt kaltsiumkarbonaadist) (joonis 1) (Wilbur, 1972). Läänemere rannakarbid on õhema kestaga ja väiksemad kui Põhjamere rannakarbid, mis on tõenäoliselt tingitud merevee väiksemast soolasisaldusest (Böhle, 1972, Seed, 1968).

Kest on karmiks välisküljeks, mida rannakarbi rakud toodavad, et kaitsta pehmet sisu kiskjate eest (Marin *et al.* 2004). Kest on biokomposiit, mis sisaldab peamiselt valke, glükoproteiine ja mineraale. Rannakarbi kest sisaldab kaltsiidi või aragoniidi polümorfidena 95–99% kaltsiumkarbonaati (CaCO_3). (Zhang *et al.*, 2006). Kest koosneb üldjuhul kolmest kihist:

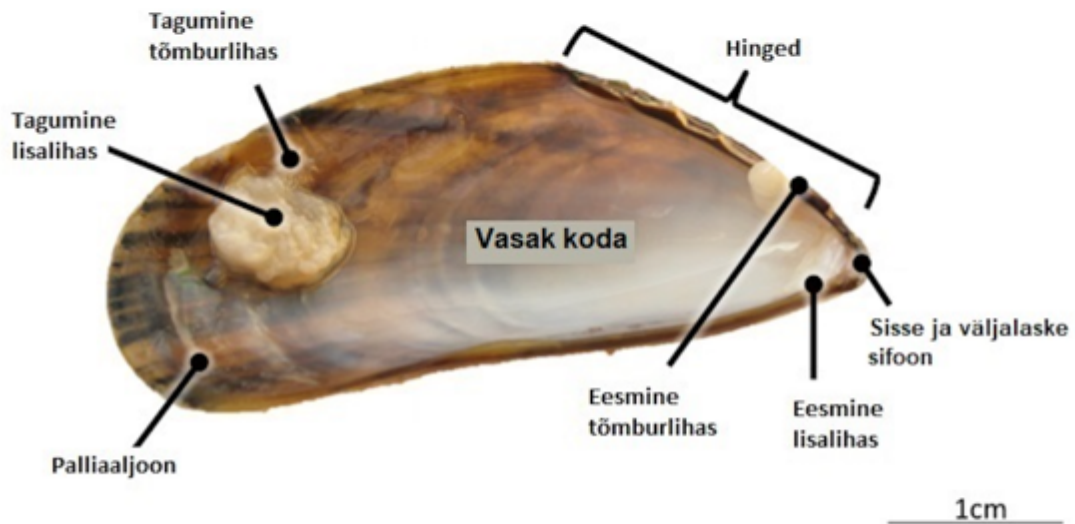
välimine orgaaniline *periostracum*, sellele järgnevad lubjastunud prismakiht ja sisemine lubjarikas pärlmutrikiht. *Periostracum* koosneb peamiselt lahustumatutest valkudest konhiooliinidest. (Chen *et al.*, 2004)

Karpide ehitus sõltub karbi eluviisist, elupaigast, sügavusest ning veekogu põhja omadustest, kus nad elavad, millele kinnituvad või millesse kaevuvad. Molluskite mõõtmete, ehituse ning kojapoolmete värvide mitmekesisus on suur (Prins *et al.*, 1998).

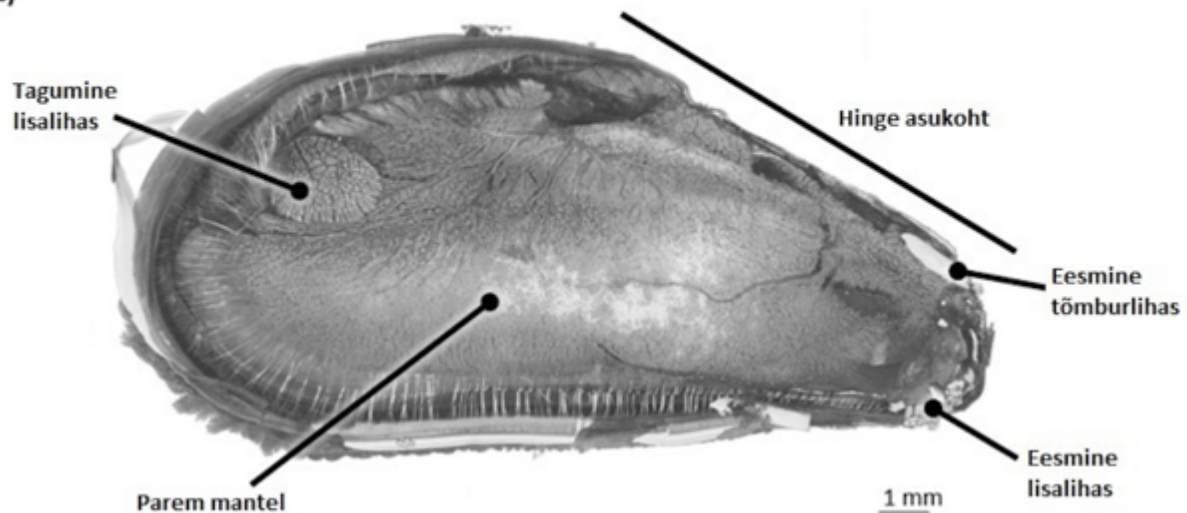
(a)



(b)



(c)



Joonis 1. Rannakarbi ehitus 3D visualisatsioon (Eggermont *et al.* 2020)

1.1.3. Paljunemine

Rannakarbi eluiga on umbes 12 aastat ja täiskasvanuks saamise aeg 1 - 2 aastat. Sigimine toimub kevadel, kuid sõltuvalt temperatuurist ja toiduküllusest võib suvel või sügisel tekkida teine munemisperiood (Seed, 1969; Kautsky, 1982). Läänemeres toimub esimene kudumine teisel eluaastal (Kautsky, 1982). Munadest kooruvad vastsed ning need hõljuvad veesambas mõne nädala ja siis kinnituvad kõvale substraadile, milleks võib olla ka karbikasvandus.

Söödaval rannakarbil on pikk planktonivastsete faas, üldiselt 3 - 4 nädalat (Seed, 1969) ja Läänemeres 5 - 6 nädalat (Kautsky, 1982), mis loob võimaluse karpide laialdaseks levimiseks.

1.1.4. Levik ja olulisus Läänemeres

Põhjapoolkera merede sh ka Läänemere ökosüsteemi üheks võtmeliigiks on söödav rannakarp. Söödav rannakarp on filtreerija, kes toitub fütoplanktonist ja teistest veesambas hõljuvatest osakestest (Prins *et al.*, 1998). Intensiivse vee filtreerimise kaudu suunavad rannakarbid suure hulga toitainetest veesambast põhjakooslustesse (Kautsky *et al.*, 1987) ja pakkudes sellega paljudele kala- ja linnuliikidele olulist toidulisa (Koivisto, 2011). Söödav rannakarp on ka oluline ökosüsteemi insener. Tihedate koosluste moodustamise kaudu loob ta oma kodade vahel elupaiga teistele loomadele (Gutiérrez *et al.*, 2003). Seega on rannakarpide populatsioonide jätkusuutlikkus Läänemere ökosüsteemi võtmeküsimus.

Peamine põhjus, miks on Läänemere karp väike, on merevee madal soolsus. Madala soolsuse tõttu kulub karbil suur hulk energiat, et pumbata kehast välja üleliigne vesi. Karbid peavad rakkudes hoidma kindlat soolasisaldust ning osmootne rõhk ehk siis vee sissevool rakkudesse on Läänemere vete madalama soolsusega osades suurem. (Riisgård *et al.*, 2014)

Läänemeri on suur epikontinentaalne riimveekogu, millel on püsiv lääne-idasuunaline soolsusgradient soolase vee sissevoolu tõttu Põhjamerest ning suure mageda vee sissevoolu tõttu jõgedest. Soolsus varieerub mageveest Läänemere idapoolseimates osades peaaegu ookeanilise soolsusega (20 psu) Läänemere lääneosas. Läänemere madala soolasisaldusega piirkondades elavad populatsioonid, kus domineerivad *M. trossulus* geenid, mis on madalate soolsuste suhtes tolerantsemad (Kijewski *et al.*, 2019; Wenne *et al.*, 2020).

1.2. Karbikasvatus maailmas ja levinuimad viljelusviisid

1.2.1. Kasvatamine

Maailma vesiviljeluses on rannakarpidel suur roll, nende toodang on maailmas alates 1950. aastatest pidevalt kasvanud, ulatudes 2016. aastal 2 miljoni tonnini, väärtuseks 3,8 miljardit USA dollarit (3,4 miljardit eurot) (FAO, 2019). Peaaegu 94% kogu rannakarbi toodangust pärineb vesiviljelusest. Peamised rannakarbi vesiviljelust tootvad riigid olid 2016. aastal Hiina (43%), Tšiili 15%, Hispaania (11%), Tai (6%), Uus-Meremaa (5%), Itaalia, Prantsusmaa, Korea Vabariik ja Holland (kõik neli riiki umbes 3%). Euroopa osa moodustas 20% kogu toodangust.

Kuigi Euroopa riigid, nagu Hispaania, Itaalia, Prantsusmaa ja Holland, on endiselt olulised tootjad, ulatus Euroopa rannakarbi vesiviljeluse toodang 1990. aastate lõpuks 600 000 tonnini, kuid on sellest ajast vähenenud 480 000 tonnini (väärtuseks 420 miljonit eurot ehk 465 miljonit dollarit) 2016. aastal (FAO, 2019).

Rannakarbi toodang moodustab üle kolmandiku ELi vesiviljeluse toodangust. Sellest tulenevalt on rannakarbi tootmise vähenemine problemaatiline, sest võib põhjustada ELi vesiviljeluse arengu seiskumise ja seetõttu jääks täitmata ELi 2020. aasta vesiviljelustootmise eesmärk (Guillen *et al.*, 2019). ELis ei ole ainsatki põhjust selgitamaks rannakarbi tootmise vähenemist. Arvatakse, et rannakarbi tootmine on haiguste leviku, merevee õitsengute, kiskluse ja madalate sissetulekute tõttu vähenenud. Tootmise vähenemist võisid põhjustada kohalikud olud, näiteks karbikasvatustevõtete väike suurus (Villasante *et al.* 2013; Theodorou *et al.*, 2017), rannakarbi tootmise protsesside vähene innovatsioon (Labarta *et al.*, 2019), ökosüsteemide kandevõime puudulikkus rannakarbitootmise toetamiseks ja kliimamuutuse mõjud (Rodrigues *et al.*, 2015; Outeiro *et al.*, 2018).

Rannakarpe on sajandeid korjatud enamikus Euroopa rannikuäärsetes riikides looduslikest elupaikadest toiduks, kalasöödaks ja väetiseks (Voultsiadou *et al.*, 2010). Rannakarbi vesiviljelus, mis põhineb pelaagiliste vastsete kogumisel ja nende ohutumates kohtades kasvatamisel, on pärit keskajast. Tänapäeval kogutakse looduslikke karpide noorjärke veel endiselt mitmes riigis, kuigi on välja töötatud uued looduslike noorjarkude kogumise tehnikad (nt planktonvastsetele sobilike kasvusubstraatide pakkumine). Lisaks on mõnes Euroopa riigis võetud kasutusele haudejaama tehnoloogiaid, mis võimaldavad ruumilist (sh polüploidset) tootmist (Piferrer *et al.*, 2009; Kamermans *et al.*, 2013). FAO andmetel andsid 2016. aastal suurema osa ELi rannakarbi toodangust (82% massi ja väärtuse järgi) neli riiki (Hispaania, Itaalia, Prantsusmaa ja Holland).

Läänemeres toimub karpide kasvatamine enamasti veesambas ja karbikasvanduste materjalidena kasutatakse eri tüüpi hõljuvsubstraate, mida riputatakse veesambasse ning kinnitatakse merepõhja raskuste abil. Tihti on tegemist siledade (nt. 0,5–1 cm läbimõelduga kapronkõied), silmuseliste (nt. Donaghys ROM 1407 – Aqualoop Crop HM Rope) või lindikujuliste kõitega. Samuti on levinud ka traalvõrkude kasutamine. Sellist hõljuvsubstraatide abil teostatud kasvatusviisi peetakse kõige tõhusamaks, kuna kiskjad ei pääse karpidele ligi ja karpide kasv on soojema ja toitelisema vee tõttu kiirem kui põhjalähedases vees. Kuna Eesti

merealadel esineb sisuliselt vaid kaks olulisemat substraatidele kinnituvad karbiliiki, siis soovitud karbiliigi kasvatamiseks on vaja hõljuvsubstraate kultiveerida vesiviljeldava liigi sobivas kasvukohas. Õigete substraatide ja kasvusügavuste kasutamisel kinnitub hõljuvsubstraadile vajalik liik (Kotta *et al.*, 2020).

BBG (Baltic Blue Growth) projekti tulemused (<https://www.submariner-network.eu/balticbluegrowth>) näitasid, et karbikasvatamine on Läänemeres tulemuslik, majanduslikult tasuv ja karbikasvandustega eemaldame ka suuri koguseid toitaineid. Põhjalik keskkonnaseire Läänemere kõigis kuues karbifarmis ei tuvastanud kolme aasta jooksul mitte mingis aspektis ühtegi olulist negatiivset keskkonnamõju. Lisaks eelpool kirjeldatule on Eesti mereala karpide toksiinisisaldus väga madal, mistõttu võib seda ressursi kasutada inimtoiduks ja/või loomasöödana. Vaatamata neile positiivsetele asjaoludele pole käesoleval hetkel Eestis veel ühtegi arvestatavat karbifarmi (Kotta *et al.*, 2020).

Veel hiljuti arvati, et karbikasvatusel pole Läänemeres perspektiivi, sest karbid ei kasva siin nii suureks kui kõrgema soolsusega ookeanivees. Tegelikult on aga karbikasvanduste saagikus ka madala soolsusega merealadel väga suur. Karpe saab meie meres tulemuslikult kasvatada ja pole probleemi saavutada ühe kilogrammi karpide tootmise kuluks vaid 50 eurosent. Kuigi karbid on väiksemad, saab neid kasutada väetiste, kala-, looma- ja linnusööda tootmiseks ning eelnevalt töödelduna ka toiduks inimestele, või toorainena farmaatsia- ja kosmeetikatööstuses. Kasumlikkus sõltub tootest - tulud ja kulud on tasakaalus, kui valmistakse sööta, tulud kasvavad, kui eesmärk on toota kõrgema väärtusega saadusi. (Kotta *et al.*, 2020)

Redstorm OÜ on praegusel ajal ainus ettevõtte, kes omab kogemusi tööstusliku karbikasvatuse alal Eesti rannikuvetes. Loodud karbikasvatuse eesmärgiks on kalakasvatuse lämmastiku ja fosfori emissiooni kompenseerimine.

ELis kasutatakse nelja peamist rannakarbi kasvatamise tehnoloogiat, millest kaks on hõljuvad ja kaks on seotud merepõhjaga (Avdelas *et al.*, 2020).

1.2.2 Parvekultuur

Parv on ujuv platvorm umbes 30 m pikkuste ujuvate köitega, mida saab kokku voltida vastavalt platvormi sügavusele. Seemnekarbid kinnitatakse köie külge ja kaetakse võrguga, mis järkjärgult kaob, kui karbid loomulikult viisil köie külge kinnituvad. Iga maatriksi rida vastab

kindlale saagile, mis kogutakse ja asendatakse sobival ajal, et säilitada kogu aasta vältel pidev tootmine (Avdelas *et al.*, 2020).

1.2.3 Kõiskultuur

Horisontaalsed kõied hõljuvad väikeste ankurdatud ujukite abil ja kõie seljaosale riputatakse vertikaalsed kõied või „sokid“, millele omakorda kinnituvad karbid. Kõiskultuur on rannakarbikultuuri kõige uuem meetod ja seda kasutatakse sageli parvekultuuri alternatiivina suurema laineenergiaga avatud aladel (Avdelas *et al.*, 2020).

1.2.4 Põhjakultuur

Toimib põhimõttel, et rannakarbi munad viiakse piirkondadest, kus nad on looduslikult elanud, piirkondadesse, kuhu neid saab paigutada madalama tihedusega, et kiirendada kasvu, suurendada saaki ja kontrollida kisklust. Põhjakultiveerimisel kasutatakse rannakarpide ladestamise või kinnitamise põhjas fikseeritud peenraid või vaiasid (Avdelas *et al.*, 2020).

1.2.5 ‘Bouchot’ kultuur

Selles tehnikas kasutatakse loodetevahelisse merepõhja implanteeritud vertikaalseid vaiasid või poste (tuntud prantsuse keeles kui bouchots). Kõied, millel rannakarbid kasvavad, seotakse spiraalina virnadel, mille võrk võimaldab vältida rannakarpide kukkumist ja röövimist (Avdelas *et al.*, 2020).

1.3. Keskkonnasäästlik karbikasvatus

Läänemerre sobivad kasvatusmeetodid on kõik kõie- või võrgupõhised. Kalanduse ja vesiviljeluse areng on suuresti toetunud plasti kasutusele ja tõenäoliselt jätkab seda ka lähitulevikus. Kõied ja võrgud, mis on tehtud sünteetilisest kiududest, on kaalult kergemad ja palju vastupidavamad kui looduslikest kiududest materjal (FAO, FISHERIES AND AQUACULTURE, 2017). Mikroplastide uuring rannakarbikasvanduses Brasiilias, Jurujuba Cove'is tuvastas rannakarpides kõrge mikroplasti sisalduse, mille ainus arvatav päritolu saab olla kohalikus rannakarbikasvatuses kasutatavatest substraatidest (Castro *et al.*, 2016). Mathalon ja Hill (2014) tuvastasid kõrge mikroplasti taseme tehistingimustes kasvatatud rannakarpides, võrreldes loodusest kogutud isenditega, mis samuti näitab mikroplasti suurenenud omastamist vesiviljelusel kasutatud kasvuliinidest.

Fossiilkütusepõhiste plastmaterjalide asemel on teadlased loonud iselagunevaid plastikuid taastuvatest biomassidest saadud looduslikest komponentidest, näiteks taimsetest suhkrutest. Nende katsetused erinevate “retseptidega” on andnud tulemuseks potentsiaalsete köiematerjalide kogumi. Eesmärk on leida plastikud, mis merevees ei lagune ning peale kasutustsükli on kergelt komposteeritavad (Loctier, 2021).

Läänemere tingimustes tuleks kasutada ainult naturaalsest materjalist köisi, mis ei ole keskkonda koormavad. Maailmas tegeletakse viimastel aastatel üha aktiivsemalt looduslike materjalide väljatöötamisega kalandussektorile, kuna kalandus ja vesiviljelus on tööstusharu, mis kasutab pea eksklusiivselt vaid mittelooduslikke materjale. Üks sellise materjali väljatöötamisele ja propageerimisele pühendunud ettevõtmine on Biogears. BIOGEARS arendab biopõhiseid püügivahendeid kui lahendusi keskkonnasõbraliku avamere vesiviljelussektori loomiseks multitrofilises lähenemisviisis ja uute biopõhiste väärtusahelate loomisel. Projekt käivitati novembris 2019, mida rahastas EMKF-01-2018 Blue Labs: Innovative Solutions for Maritime Challenges Euroopa Komisjoni VKEda täitevasutus (EASME). (Cordis, 2021) Ühe alternatiivina karpide kasvatamiseks pakub Hispaania ettevõtte Interma 100% looduslikku kookoskiu baasil tehtud köit (joonis 2).



Joonis 2. Ettevõtte Interma toodetav kookoskiu köis (A) kasvusubstraadina (B) värske farmina (C) köis rullis (Interma. 2021)

1.4. Rannakarbi väärindamise võimalused inimtoiduks

1.4.1 Rannakarbi toitaineline väärtus

Mytilus edulis liha sisaldab kuivaines umbes 58,7% valku, 22,5% süsivesikuid, 7% lipiide ja 11,8% tuhka (joonis 3. Tuhavaba kuiva liha keskmine kaloriväärtus on 5,57 kcal/g (Dare *et al.*, 1975). Rannakarbi liha eelis on kõrge valgusisaldus, 11–12% (60–65% kuivainest), sealjuures

on seeditavate valkude osakaal 70–80%, rasva on 2-3% (Pakhomov et al., 2020). Rannakarbi liha niiskusesisaldus on väga kõrge, 80–82%.

Karbiliha on rikas valkude, omega-3 rasvhappe, magneesiumi, kaltsiumi, seleeni, raua, vitamiini B12 poolest. Nad on suure magneesiumi- ja kaaliumisisaldusega, tugevdades nii südant kui ka närvisüsteemi. Seega on väga oluline soodustada sellise tooraine intensiivsemat kasutust meie toidlustuskohtades ning toiduainetööstuses. Karpide homogeniseeritud lihamassi saab potentsiaalselt kasutada väga erinevate toidutoodete arendamiseks, sh pastaroogade, puljongipulbrite, (harrastus)sportlastele mõeldud tervislike valgubatoonide valmistamisel. Lihamassi vähemväärtuslik osa koos kestadega töödeldakse ümber kala-, linnu- ja/või loomatoiduks. Lisaks on erinevaid fraktsioonide kasutusvõimalusi kõrge lisandväärtusega toodete valmistamisel (nt. söödalisandid, pro-biootikumid) (Kotta *et al.*, 2020)

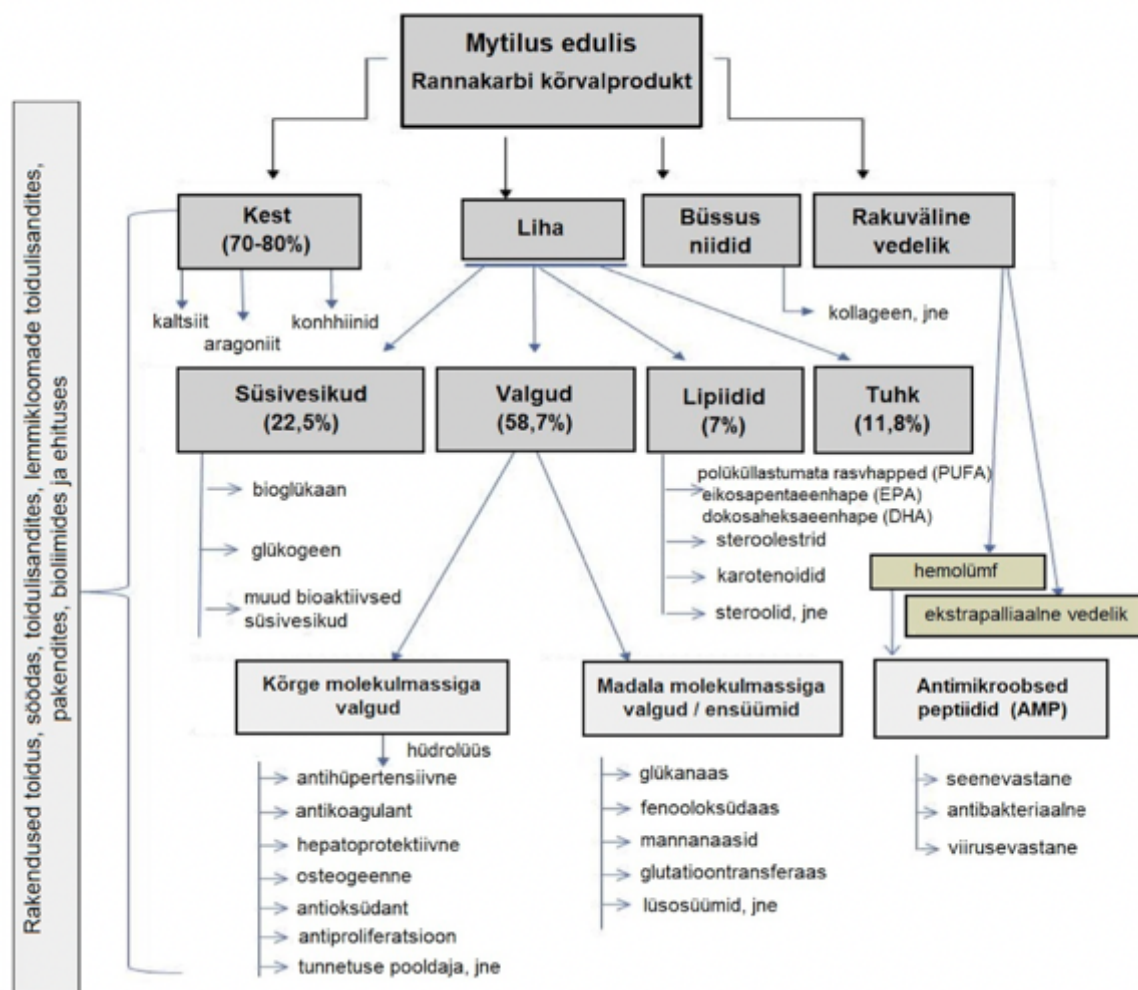
1.4.2 Rannakarbi kõrvalsaaduste kasutusvõimalused

Rannakarbi töötlemise tõhususe suurendamiseks tuleb efektiivsemalt kasutada kõrvalsaadusi, mille hulka kuuluvad alamõõdulised rannakarbid ja purunenud karbid. Lisaks rannakarbi kõrvalsaaduste morfoloogilisele iseloomustamisele on veel üks analüüsitav kvaliteediparameeter - küpsetatud liha saagikus (Bongiorno *et al.*, 2015). Toiduks valmistamisel peaks rannakarbi liha saagikus olema >30%, et neil oleks toidukaubana turgu. Seega lükatakse madalama lihasaagisega rannakarbid nende vähese kaubandusliku väärtuse tõttu tagasi ja neid liigitatakse kõrvalsaadusena. Vaadates Läänemere karbi keskmist suurust, selgub, et teoreetiliselt liigitub rohkem kui 95% saagist kõrvalsaaduseks. Et jätkusuutlikult karbifarmi majandada, tuleb saadusi väärida (Kotta *et al.*, 2020).

Rannakarbi kõrvalsaadusi saab fraktsioneerida kestaks, lihaks, büssuse niidiks ja rakuväliseks vedelikuks (joonis 3). Karbi kest moodustab 70–80% kogu kõrvalsaaduste massist, millele järgnevad liha ja büssuseniidid. Valk on liha- ja büssuseniidi peamine koostisosa, kestad koosnevad aga peamiselt mineraalidest kaltsiidi või aragoniidi kujul. Ehkki rakuvälist vedelikku leidub väikestes kogustes, on hiljutised uuringud leidnud mitmeid bioaktiivseid molekule hemolümfi- ja ekstrapalliaalses vedelikus (Heinemann *et al.*, 2012).

Värsked rannakarbid on äärmiselt kiiresti riknev kaup ja seda vaatamata külmkapis hoidmisele (Bhunja *et al.*, 2017). Rannakarbilihas on kõrge niiskusesisaldus, neutraalne pH ja hüdrofüütiliste ensüümide olemasolu kiirendab lagunemisprotsessi (Ovissipour *et al.*, 2013).

Varem läbiviidud uuring, milles analüüsiti lipiidide oksüdeerumist rannakarpides ja sellest tulenevat säilivusaega temperatuuril 4°C, näitas lihas pärast 3-päevast säilitamist statistiliselt olulist polaarsete lipiidide vähenemist (Zhou *et al.*, 2019). Seetõttu tuleb rannakarpi ja selle kõrvalsaadusi töödelda 72 tunni jooksul pärast saagikoristust, et vältida rannakarbi liha riknemist. Peroksiidi väärtus (PV), tiobarbituurhappega reageerivad ained (TBARS) ja üldoksüdatsiooni (TOTOX) võrdlus- ja katseväärtuste proove tuleb enne töötlemisskeemide järgimist võrrelda. Halvenenud või oksüdeerunud rannakarbiliha tuleb müügil kõrvaldada ja leida võimalus selle kasutamiseks väheväärtuslike toodetena, näiteks kalajahuks või kompostimiseks (Naik *et al.*, 2019).



Joonis 3. Ülevaade *Mytilus edulise* koostisest ning potentsiaalsetest toidu- ja funktsionaalsetest toidu koostisosadest (Naik *et al.*, 2019).

1.4.3. Rannakarbi liha töötlemise võimalused pasteediks

Karbiliha kõrvalsaaduste väärindamisel katsetati rannakarbipasteedi tootmist analoogselt tuunikalapasteedi tootmisega (Iribarren *et al.*, 2010). Rannakarbipasteedi tootmine osutus perspektiivseks alternatiiviks kõrvalsaaduste kasutamisele. Tuunikalapasteedi tootmine on üsna hästi välja kujunenud ja kasutab samu tehnoloogilisi meetodeid kui rannakarbipasteedi tootmine (Grupo Calvo, 2009). Rannakarbipasteedi tootmine eeldab tuunipasteedi tootmisega samu varusid, kus tuunikala asemel on põhiliseks kõrvalsaaduseks rannakarbi liha. Tehtud katse käigus jagati pasteedi tootmine viieks etapiks. Esialgu toimetatakse rannakarbi orgaanilised jäägid veokiga tehasesse lähetuskeskustest ja konservitehastest. Ülejäänud koostisosad toodetakse ja transporditakse tehasesse samal moel. Töötlemisetapp toimub pasteeditehases. Esimene samm hõlmab vee kaalumist ja lisamist mikserisse. Seejärel kaalutakse ja lisatakse kuivained. Järgmine samm on segu segamine, kuni pasta on ilma tükkideta ja läikiv. Pastal lastakse settida, et saavutada varem koostisosana kasutatud sojavalgu täielik hüdratatsioon. Järgmised etapid seisnevad õli ja rannakarbi orgaaniliste jäätmete lisamises. Kui osa rannakarbi biomassist jõuab tehasesse keetmata, on enne tarvis karbiliha keeta. Mõni minut pärast jahvatamist kantakse saadud pasta (pasteet) täitmismasinasse. Kui see etapp on saavutatud, on toode valmis pitseerimiseks ja steriliseerimiseks. (Iribarren *et al.*, 2010).

1.4.4. Karbi kesta väärindamise võimalused

CaCO_3 tootmine kestadest eeldab kuumtööstlust ahjus temperatuuril 200°C tund aega, millele järgneb kiire jahvatamine ja saadud pulbri kuumutamine kahe tunni jooksul temperatuurini 500°C (Wei *et al.*, 2018). Saadud pulber sisaldab 95,7% CaO , võrreldes 99,1% CaO -ga kaubanduslikult kasutatavas CaCO_3 -s (Hamester *et al.*, 2012). Uued innovatsioonid on võimaldanud kesta kõrvalprodukti väärindada kõrge puhtusastmega nano-suurusega kaltsiumkarbonaadi pulbriks, mida saab kasutada niširakenduste jaoks, nagu tellingute tootmiseks, luude regenereerimiseks ja katalüsaatorina kõrgel temperatuuril toimuvate reaktsioonide jaoks (Boyjoo *et al.*, 2015). Kestadest CaO valmistamiseks kasutatakse kaltsineerimismeetodit, mille käigus kuivatatud kestad kuumutatakse väga kõrgel temperatuuril vahemikus 700 kuni 1000°C õhu juuresolekul kuumutamiskiirusel $10^\circ\text{C} / \text{min}$ 4 tundi, et lagundada CaCO_3 süsinikdioksiidiks ja kaltsiumoksiidiks. Saadud CaO hoitakse eemal niiskest õhust, et vältida CaCO_3 taasmoodustumist (Buasri *et al.*, 2013). Saadud keemilised ained

CaCO₃ ja CaO leiavad rakendust ehitusmaterjalides, toidulisandites, farmaatsiatoodetes, loomasööda ja plasti tootmisel (Hellen *et al.*, 2019).

Rannakarbi kestad on erinevates värvides ja neid nimetatakse sageli kesta oleva pigmendi, näiteks sinise, pruuni ja rohelise huulega rannakarbi järgi. Molluskis esinevad peamised pigmendid on karotenoidid, melaniin ja tetrapürroolid nagu porfüriinid ja sapipigmentid (Williams, 2017). Mitmete molluskikestade resonants-raman-spektrid näitavad polüeenide olemasolu pigmendimolekulidena. Polüeenid on polüküllastumata orgaanilised ühendid, millel on polüseenses lineaarses ahelas C – C ühe- ja kaksiksidemed (Stemmer *et al.*, 2014). *Mytilus edulis* sisaldab sinist polüeeni vastavalt Hedegaardi jt uuringule. (Hedegaard *et al.*, 2006). Pigment ei ole ainult metaboolne lõpp-produkt, vaid sellel on ka oluline funktsioon kesta moodustamisel. Sinist värvi on alati olnud keeruline sünteesida ja seetõttu on see toidu- ja keemiatööstuses suure majandusliku väärtusega (Newsome *et al.*, 2014). Kuna kooriku jäätmed on võimalik sinise pigmendi allikas, tuleb rohkemates uuringutes keskenduda selle pigmendi isoleerimise võimalustele (Naik *et al.*, 2019)

1.4.5. Lipiidide eraldamine ja kasutusvõimalused

Rannakarbiliha kaks peamist töödeldud fraktsiooni on lipiidid ja valgud (Naik *et al.*, 2019). Rannakarbist sisalduv lipiidide kogus on varieeruv, kuid on täheldatud, et see võib sisaldada vähemalt 2% lipiide karpidest märgmassis. Sellest omakorda 75% on struktuursed lipiidid (Kluytmans *et al.*, 1985). Rohehuul ja rannakarbi võrdlusuuringus leiti vähe erinevusi lipiidide sisalduses ja lipiidide klassi koostises (Murphy *et al.*, 2002). Uuringust selgus, et mõlemad liigid sisaldasid suures koguses fosfolipiide (57–79%), triglütseriide (10–25%), vabu rasvhappeid (7–12%) ja steroole (12–18%) (Both *et al.*, 2011). Teadlased tuvastasid söödavas rannakarbist ka fosfolipiidide ja dokosaheksaanhappe (DHA) kõrgema taseme, võrreldes rohehuul-rannakarpidega, samas kui eikosapentaanhapet (EPA) esines viimases rohkem.

Rannakarpide kasutusvõimalusi tuleks senisest rohkem uurida farmaatsiatööstuses, kuna see on rikkalik bioaktiivsete ainete allikas. Fosfolipiidide rasvhapete estritel on teadaolevalt suurem biosaadavus ja ringlus võrreldes triglütseriidide estritega. Glütserofosfolipiidid on kõige levinumad fosfolipiidide tüübid ning rannakarpide puhul on glütserofosfoliini, glütserofosfetanolamiini ja glütserofosfoseriini domineerivad alatüübid (Lin *et al.*, 2003). Ligikaudu 50% rannakarbi rasvhapetest on polüküllastumata rasvhapped ja õlil on väga kõrge omega 3 ja omega 6 suhe (4: 1–11: 1) (Fernandez *et al.*, 2015). Lipiidide põletikuvastane toime

on omistatud polüküllastumata rasvhapetele, seega on söödavad rannakarbid alternatiivsed polüküllastumata rasvhapete allikad, mida on võimalik kasutada põletikuvastastes toidulisandites.

Reumatoidartriiti põdevate patsientide toiduvaliku uuringute eesmärgil tehtud randomiseeritud kontrollkatsetes leiti, et 75 g rannakarbi liha tarbimine vähendas põletikulise haiguse sümptomeid ja parandas üldist tervislikku seisundit (Lindqvist *et al.*, 2018). Kuigi kolesterool on rannakarbis peamine sterool, on selle sisaldus tagasihoidlik. Samuti sisaldavad lipiidide fraktsioonid kolesterooli alandavat sterooli nagu brassikasterool või desmosterool. Nimetatud biokomponentide tase ei ole konstantne ning see muutub vastavalt rannakarbi toitumisele, soolisele erinevusele, aastaajale, keskkonnale ja kasvustaadiumile (Karen *et al.*, 2002, Gallardi *et al.*, 2017).

Põletikuvastane omadus on seotud lipiidide fraktsiooniga. Varem rohehuul-rannakarbi lipiidide kohta läbi viidud uuringute tulemuseks on mitmete luud tugevdavate lisandite turuletoomine, sealhulgas musselflex©, seatone© ja Lyprinol© (Doggrell, 2011). Hoolimata rannakarpide lipiidide ja valkude koostisosadega seotud uuringutest kasutatakse tänapäeval rannakarpe ainult toiduvalmistamiseks ja käesoleval ajal ei eksisteeri funktsionaalseid toiduaineid, kus kasutatakse söödava rannakarbi fraktsioone.

Lipiidide eraldamine võib toimuda vedeliku ekstraheerimise või traditsiooniliste hüdrauliliste pressimis- ja lahustiekstraktsioonimeetodite abil. Fosfolipiidide ekstraheerimine on olnud teadlaste jaoks väljakutse ja puhas CO₂-põhine ülikriitiline ekstraheerimismeetod isoleerib ainult neutraalseid lipiide. Modifikaatoreid, näiteks etanooli, võib kasutada koos CO₂ või propaaniga ja dimetüületrit saab kasutada ilma rannakarbi fosfolipiidifraktsioonide modifikaatoriteta (Catchpole *et al.*, 2009). Rakke saab külmuivatada ja purustada enne nende ekstraheerimist.

1.4.6 Valkude eraldamise meetodid ja kasutusvõimalused

Rannakarbis olevaid valke võib klassifitseerida kõrge molekulmassiga valkudeks ja madala molekulmassiga valkudeks. Kõrge molekulmassiga valgud hüdrolüüsitakse hüdrolüsaatideks, kasutades proteolüütilisi ensüüme. Hüdrolüsaadid sisaldavad madalama molekulmassiga bioaktiivseid peptiide, millel on erinevad funktsioonid ja bioaktiivsus. Madala molekulmassiga valgud on tavaliselt isoleeritud ensüümid, mis leiavad kasutust biokeemias (Naik *et al.*, 2019).

1.4.7 Kõrge molekulmassiga valgud

Rannakarbiliha kõrgema molekulmassiga valke saab klassifitseerida nende vees lahustuvuse põhjal. Vees lahustuv fraktsioon moodustab sarkoplasma valgud (48,4%), müofibrillaarsed valgud (17,19%) on soolas lahustuvad, maatriksvalgud on aga vees lahustumatud (11,39%). On tuvastatud rohkem kui 30 *Mytilus edulise* valku, millest mõned on paramüosiin, tropomüosiin, kollageenitaoline valk, filamenditaoline valk, histoon, transgeliinitaoline valk ja teised (Qiao *et al.*, 2018).

Eraldatud valgufraktsioonid töödeldakse füüsikalise-keemiliste meetodite kombinatsiooni abil ja hiljem hüdrolyüsatakse, et saada kõrge lisandväärtusega tooteid. Mõned rannakarbi valkude ekstraheerimiseks ja töötlemiseks kasutatavad meetodid on järgmised:

1) pH nihke meetod

pH nihkemeetodit kasutati varem väheväärtuslike toorainete jaoks ja see hõlmab valgu lahustamist happe või leelise abil ning valkude hilisemat sadestamist optimaalse sadestamise pH juures. Maksimaalne rannakarbi valkude lahustumine on saavutatud pH-ga 2,6 ja 12 vastavalt happe ja leelisega, samal ajal kui sademete optimaalne pH on vahemikus viis kuni kuus. Leeliselahustunud rannakarbi lihavalgud näitavad suurt saagikust ja head funktsionaalsust (kõrgemat geelitugevus) ning eraldatud proteiin on oksüdatsiooni suhtes stabiilne (Vareltzis *et al.*, 2012).

2) Kuulveskiga töötlemine

Rannakarbiist saadud vees lahustuvad isoelektrilised sadestunud valgud jahvatati kuulveskiga 20 Hz juures 20 minutit segisti abil. Pärast jahvatamist paranes värv, õli sidumisvõime ja *in vitro* seeduvus sekundaarse, tertsiaarse ja kvaternaarse valgu struktuuri muutuste tagajärjel. Valgu osakeste suurus vähenes jahvatamise tulemusena ja hüdrofoobsus suurenes, mis viis õli seondumise suurenemiseni (Yu *et al.*, 2018).

3) Kõrgsurvega homogeniseerimine

Rannakarbiist saadud isoelektriline sadestatud proteiini isolaat homogeniseeriti kõrge rõhu all homogenisaatoriga rõhul 20–100 MPa kolme pideva tsükli jooksul. Protsess muutis rannakarbi valgu sekundaarset, tertsiaarset ja kvaternaarset struktuuri sarnaselt kuulveski jahvatamise protsessiga. Protsessi tulemusel vähenes valgu osakeste suurus, suurenes hüdrofoobsus, vees lahustuvus ja valgu laeng. Eelnimetatud valgu muutused tõid kaasa emulsiooni stabiilsuse ja

aktiivsuse indeksi ning vahutamisvõime (Ju *et al.*, 2018), mis parandas rannakarpidest eraldatud valgu funktsionaalsust.

4) Ultraheliga töötlemine

Rannakarbi leelise pH-nihkega lahustatud valk allutatakse ultrahelikiirusele (20 Hz) 200–600 W 36 minuti jooksul. Sarnaselt teiste füüsikaliste meetoditega täheldati valgu sekundaarse, tertsiaarse ja kvaternaarse struktuuri muutusi. Tulemuseks oli parem lahustuvus, õli hoidmisvõime, emulgeerivad ja vahutavad omadused, mida saab kasutada toiduainete töötlemisel ja tootearenduses (Ju *et al.*, 2018). Kokkuvõtvalt võib tõdeda, et nimetatud tehnoloogia miinuseks on selle kallidus ja keerulisus suurel skaalal kasutamiseks.

Tabel 1 võtab kokku eelpool kirjeldatud meetodite plussid ja miinused.

Tabel 1. Ülevaade töötlemise meetoditest (Autori koostatud)

<i>Nimetus</i>	<i>Eesmärk/tulem</i>	<i>Kallis/Odav toota</i>	<i>Skaleeritav tööstusele</i>
pH nihke meetod	Valgu lahustamine happe või ensüümi abil	mõõdukalt kulukas	keeruline
Kuulveski meetod	Õli siduvusvõime suurendamine, ja seeduvuse parandamine	Odav	Jah
Kõrgsurvega homogeniseerimine	Hüdrofoobsuse, lahustuvuse ja valgu laengu suurendamine	Kallis	pigem raske
Ultraheliga töötlemine	Paremaks lahustuvuseks ja õli sidumisvõime suurendamiseks	Kallis	võimalik

Tööstuslikuks tootmiseks tuleb kasutada mitut meetodit, mis põhinevad tooraine kvaliteedil, kuludel, eeltöötlemisel ja olemasolevatel säilitamismeetoditel. PH nihke meetodit võib kasutada rannakarbiliha valgu maksimaalse koguse lahustamiseks ja isoleerimiseks. Seejärel võiks kaaluda üldist meetodit, näiteks kuulveskiga töötlemist, parandamaks eraldatud valkude füsiokeemilisi omadusi. Edasise fraktsioneerimise või puhastamise võib läbi viia filtreerimise, kromatograafia või muude eraldamismeetodite abil, kui osutub vajalikuks uurida üksikuid puhtaid valke. Majanduslikust seisukohast lähtudes näivad puhastamata valgufraktsioonil põhinevad tooted kasumlikumad. Lähtudes sellest, kas olulisem on suurem üldine saagis või konkreetse aine toime, saab ülalnimetatud meetodeid kasutada kuluefektiivse tehnoloogia loomiseks (Naik *et al.*, 2019).

1.4.8 Madala molekulmassiga valgud

Rannakarbi ja valgu kontekstis on ensüümid endogeensed madala molekulmassiga valgud. Karbid toodavad ensüüme sisemiste metaboolsete protsesside jaoks. Alternatiivselt kasutatavad karbid ensüüme kiskjate peletamiseks. Karbist sisalduvaid ensüüme saab isoleerida ja kasutada erinevates inimtoidu toodetes. Glükanaas, glutatioon-S-transferaas, lüsoosüüm, mannanaas ja fenooloksüdaas on mõned rannakarbist varem eraldatud ensüümid. (Naik *et al.*, 2019).

1) Mannaan

Mannaasid lõhustavad teadaolevalt galaktomannaani, glükomannaani, galaktoglükomannaani ja mannaani (Matheson, 1985). Rannakarbi seedetraktist eraldati varem kaks erinevat endo- β -1,4-mannanaasi (Xu *et al.*, 2002). Ensüüm ekstraheeriti lahustite ja segamise, homogeniseerimise, segamise ja tsentrifuugimise kombinatsiooniga ning puhastati affiinsuse, suuruse väljajätmise ja ioonivahetuskromatograafia meetoditega. Puhastatud ensüümi molekulmass oli 39 KDa, pH optimum 5,2 ja temperatuuri optimum 50–55 °C. Seda ensüümi kasutavad rannakarbid toidus sisalduvate mannaaside seedimiseks. Mikroobseid mannanaase on kasutatud söödana ja toidus (Dhawan *et al.*, 2007) ning sarnaseid kasutusvõimalusi võiks uurida rannakarbi mannanaasidele, kui need on eraldatud piisavas koguses.

2) Lüsoosüümid

Limuste lüsoosüümid osalevad tavaliselt seedimises või enesekaitstes patogeensete bakterite vastu bakteriraku seina peptidoglükaanide β -1,4-seotud glükosiidsideme hüdrolyüsi teel (Allam, 1998). Rannakarpide pehmest kehast eraldati mitu lüsoosüümi vormi (Olsen *et al.*, 2003). Lüsoosüümi peamine vorm asub lihakehas ja selle suurus on 13 kDa. Ensüüm puhastati eelnevalt mitmete etappide kaupa, mis hõlmasid homogeniseerimist, tsentrifuugimist ja ultrafiltreerimist. Edasine puhastamine tehti katioonivahetuse ja geelfiltreerimise kromatograafia abil. Ensüümi iseloomustamiseks kasutati SDS PAGE ja valgu järjestust. Eraldatud lüsoosüümi pH optimum oli 6. Rannakarpide lüsoosüümid toimivad loodusliku säilitusainena ja neid saab kasutada toiduainetes ja farmaatsiatoodetes (Naik *et al.*, 2019).

3) Fenooloksüdaas

Rannakarp kinnitub mis tahes substraadile kleepuvate büssustahvlite kaudu, mis on tekkinud fenoolide okinoonideks oksüdeerumise tulemusel (Silverman *et al.*, 2007). Büssustahvlid põhjustavad bioloogilist „saastumist“ laevakeredel, elektrijaamade jahutussüsteemides jne. Rannakarbi ensüümi fenooloksüdaasi saab kasutada merevetikate looduslikest ekstraktidest eralduvate saastumisvastaste süsteemide väljatöötamiseks. Rannakarbist eraldatud ja

puhastatud looduslik fenooloksüdaas oli 34 kDa suurune, selle optimaalne pH oli vahemikus 6,8–7,2 ja optimaalne temperatuur 35 °C. Fenooloksüdaasid on tuntud ka oma ensümaatilise pruunistumisreaktsiooni tõttu toidus. Isoleeritud rannakarbiliha ensüümi saab uurida ka seoses pruunistumisega (Sikora *et al.*, 2019).

4) Glutatsioon-S-transferaas

Glutatioon-S-transferaasid on multifunktsionaalsed ensüümid, mis katalüüsivad redutseeritud glutatiooni konjugatsiooni paljude substraatidega. Nad detoksitseerivad ksenobiootikume rakus ja kaitsevad rakku oksüdatiivse stressi eest (Allocati *et al.*, 2018). Neid ensüüme on kasutatud meditsiinis patoloogilistes sõeluuringutes ja neid kasutatakse ka hepatotsellulaarse vigastuse markeritena (Douglas *et al.* 2000). Pi klassi GST-1 eraldati ja puhastati rannakarbi lõpusekoe tsütosoolist. Selleks kasutati homogeniseerimist sobivates puhvrites, tsentrifuugimist ja supernatandi järjestikust kasutamist nii afiinsus- kui ioonivahetuskromatograafias. Uuringud näitasid, et eraldunud ensüüm on dimeer, mille subühiku molekulmass on 24 kDa (Patrick *et al.*, 1995).

5) Tsellulaasid

Tsellulaasid on ensüümid, mis lagundavad tselluloosi ja seetõttu on nende kasutusala söödas, toidus ja kütusetööstuses erinev. Rannakarbi seedenäärmeist eraldatakse tsellulaasitüüp endoglükanaas ja puhastatakse selliste meetodite abil nagu happe- ja kuumsadestamine, afiinsuskromatograafia, suuruse välistamine ja ioonivahetuskromatograafia (Xu, *et al.*, 2000). Katse käigus tuvastatud ensüümi molekulmass on 19 kDa, mille tulemusel saadud ensüümi isoelektriline punkt on 7,6 ja optimaalne temperatuurivahemik on vahemikus 30 kuni 50 °C. Uuringus on välja toodud aminohapete järjestus ja sellest tulenev ensüümi struktuurne terviklikkus, mille tulemuseks oli kõrge termostabiilsus. Seega saab ensüümi kasutada töötlemisskeemides kõrge temperatuuril ilma aktiivsuse kadumiseta (Naik *et al.*, 2019).

6) Pigmentid

Rannakarbi pehmest koest on eraldatud umbes 15 karotenoidpigmenti. Peamised eraldatud pigmentid hõlmasid alloksantiini, diatoksantiini, luteiinmonadoksantiini, β -karoteeni ja teisi tuvastamata karotenoide (Campbell, 1970). Karotenoide on toiduainetetööstuses pikka aega kasutatud värvainete ja antioksüdantidena. Pigment annab lihale oranži värvi ja kaitseb liha ka oksüdatiivse riknemise eest. Eraldatud pigmente saab konserveerimiseks ja väärtuse lisamiseks kasutada toiduainetetööstuses (Naik *et al.*, 2019). Valkude hüdrolüüsil vabanevad bioaktiivsed peptiidid, millel on erinevad omadused ja bioaktiivsus. Selliste omaduste hulka kuuluvad

näiteks antioksidantsus, hüpertensioonivastatus, põletikuvastatus, antimikroobsed omadused, antikolesteroleemilised või vähivastased omadused. Bioaktiivsed peptiidid sisalduvad keeruliste 3-D valkude struktuuris ja vabanevad pärast hüdroolüüsi happe, leelise, kuumuse, ensüümidega töötlemist või spontaanset kääritamist piimhappebakterite (LAB) ja teiste proteolüütiliste tüvedega. Peptiidi sihtaktiivsus sõltub aminohapete järjestusest, peptiidi struktuurist ja suuruselt (Gianfranceschi *et al.*, 2018). Selleks, et peptiid aktiveeruks *in vivo*, peab ta pääsema seedetraktis seedumisest, tungima rakumembraanidesse ja vältima neerude kaudu puhastumist. N-atsetüülumine, C-amiidimine ja Ser / Thr / Tyr fosforüülimine võivad aidata peptiididel bioloogilistest barjääridest üle saada. *Mytilus edulis* valkudest tekkinud peptiidide hüdroolüüsi, puhastamise ja iseloomustamise kohta on läbi viidud erinevaid uuringuid (Gianfranceschi *et al.*, 2018).

7) Antioksidantsete ja põletikuvastaste peptiidide ekstraheerimine

Rakulise oksüdatsiooni tulemusel väheneb hapnik ja tekivad reaktiivsed hapniku liigid või vabad radikaalid. Mõõdukad vabade radikaalide kogused on rakkudevahelistes signaalides ja immuunvastuses hädavajalikud, kuid võivad kontrollimatult viia keeruliste füsioloogiliste häireteni nagu diabeet, kardiovaskulaarsed häired, astma või artriit (Lobo *et al.*, 2010). Antioksidantide lisamist töödeldud toidule ja dieedile füsioloogilise seisundi parandamiseks ja toodete säilivusaja pikendamiseks on praktiseeritud juba mitmeid aastakümneid. Sünteetiliste antioksidantide kahjulik mõju on aga viinud alternatiivsete, looduslike antioksidantide, sealhulgas antioksidantsete bioaktiivsete peptiidide otsimiseni. Selleks, et peptiid väljendaks antioksidatiivset aktiivsust, peaks see olema väikese suurusega ja sisaldama parajalt hüdrofoobseid aminohappeid, positiivselt laetud aminohappeid ja aromaatsid aminohappeid (Wang *et al.* 2013). Rannakarbi hüdroolüsaadi fraktsioonidega läbi viidud uuringud on näidanud, et peptiidid väljendavad multifunktsionaalsust. Antioksidantset aktiivsust nähti NO pärssimise tagajärjel. Põletikuvastast aktiivsust põhjustasid NO ja prostaglandiini E2 sekretsiooni pärssimine, surutud põletikuliste tsütokiinide tootmine ja MAPK signaaliraja pärssimine. (Park *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2016).

8) ACE-I inhibeerivad peptiidid

Hüpertensioon on arenenud ja arenguriikides kriitiline terviseprobleem ning WHO aruande kohaselt on 12,8% kõigist iga-aastastest surmajuhtumitest seotud kogu maailmas kõrge vererõhuga (Singh *et al.*, 2017). Hüpertensioon viib omakorda keeruliste kardiovaskulaarsete haigusteni, suurendades seeläbi riigi haiguskoormust. Angiotensiini muundav ensüüm-I mängib otsustavat rolli angiotensioon-I mitteaktiivse vormi muutmisel aktiivseks vormiks

angiotensiin-II, mille tulemuseks on vasokonstriksioon ja kõrge vererõhk (BP). Hüpertensiooni vastu võitlemiseks on pikka aega kasutatud sünteetilisi angiotensiini inhibiitoreid, kuid on leitud, et need põhjustavad kõrvaltoimeid. Seega on väheste kahjulike mõjudega looduslike inhibiitorite otsimine viinud taimsetest ja loomsetest valkudest pärinevate ACE-I pärssivate peptiidide uurimiseni. Varasemalt on läbi viidud uuringuid erinevate kalade ja veeorganismidest saadud valkude baasil, mille tulemusel oli võimalik eraldada uued inhibeerivad peptiidid (Mora *et al.*, 2015). Toidutoodete peptiididel, nagu rannakarbikaste või kontrollitud ensüümi hüdroolüüsiga puhastatud peptiididel, olid märgatavad ACE-I sisalduse väärtused (Dai *et al.*, 2005).

1.4.9 Karbi vedeliku potentsiaalsed kasutusvõimalused

Rannakarbist eraldatud vedelikus leitud inhibiitor pärsib edukalt ensümaatilist pruunistumist, mis teeb temast väärtusliku „säilitusaine“ puu- ja köögiviljatööstuses. Pruunistumist pärssivate alternatiivsete kemikaalide leidmine ja nende toimimisviiside mõistmine oleks kasulik puu- ja köögiviljatööstusele ning nende segmentidele, nagu eeltükid, mahlad jne. Toiduna tarbitavad looduslikud inhibiitorid on inimesele paremini omastatavad (Schulbach *et al.*, 2013).

On mitmeid inhibiitorite klasse, sealhulgas redutseerivad ained, kelaadid, kompleksimoodustajad, happesused, ensüümi inhibiitorid jne. (Chang 2009; Oms-Oliu *et al.*, 2010). Vähkide ja karpide inhibiitorite kohta on vähe teavet. Oletatakse, et molluskite inhibiitorid eksisteerivad selle loodusliku polüfenooloksüdaaside kontrollimiseks ja et need võivad pakkuda alternatiivset ensümaatilist polüfenooloksüdaaside kontrolli puuviljades ja köögiviljades (Schulbach *et al.*, 2013).

1.4.9.1 Rannakarbi inhibiitori eraldamine (Hüpotaauriin)

Ensümaatilise pruunistumise inhibiitorid leiti kaubandusliku rannakarbi tootest ekstraheeritud vedelikust. Aine, mis pärsib õuna, kartuli ja seene PPO-d, tuvastati massispektromeetria ja HPLC abil hüpotaauriinina. Hüpotaauriin ja muud sulfiinhappe analoogid näitasid õuna PPO suurepäraselt inhibeerimist (vahemikus 89% kuni 100%). Hüpotaauriin on looduslik ühend, mida leidub paljudes toiduainetes ja mis võib olla kasulik puu- ja köögiviljade, eriti lõigatud puuviljade ja mahlade pruunistumise vältimiseks. (Schulbach *et al.*, 2013)

1.4.9.2 Hüpotaariini eraldamise metoodika

Ostmisel pakendatakse külmutatud rannakarbid suletud kilekottidesse (umbes 900 g) ja transporditakse jääl laborisse. Pakend sulatatakse voolava vee all ning rannakarpe ümbritsev mahl eemaldatakse ja kogutakse. Rannakarbid purustatakse ja sisu pressitakse läbi EMD Chemical Inc. 3P Miracloth (Fisher Scientific, Pittsburgh, Pa., USA), segatakse mahlaga ja filtreeritakse vaakumis läbi Whatman GF / B klaaskiudfiltriga (Fisher Scientific). Mahlasegu filtreeritakse vaakumis uuesti läbi 0,45-µm pooride läbimõõduga Whatmani nailon-filtri (Fisher Scientific) ja dialüüsitakse dialüüsitoru Spectra / Por CE 500 Da MWCO abil (Spectrum Lab Inc., Rancho Dominguez, Calif. (USA) 3 vahetusega deioniseeritud veega 24 tundi temperatuuril 4 °C. Seda dialüsaati (toorinhibiitorit) kasutatakse algse takistuse määramiseks õunte PPO-ga. Kui takistus on kindlaks tehtud, filtreeritakse dialüsaat seejärel läbi teise 0,45-µm pooride läbimõõduga Whatmani nailonfiltri. Kolmekümneliitrine lõplik filtraat viiakse kolonnile (Sephadex G-25–80, 2,5 cm D × 38 cm L, Sigma-Aldrich Co.). Kolonn elueeritakse 0,02 M atsetaatpuhvriga (pH 5,5) voolukiirusel 0,3 ml / min, mille tulemuseks on 2 fraktsiooni, mis näitavad inhibeerimist (Schulbach *et al.* 2013).

1.4.10 Rannakarbi väärindamise võimaluste kokkuvõte

1.3. peatüki kokkuvõtteks on tabelis 2 toodud kõik rannakarbist potentsiaalselt saadavad komponendid. Karbis on palju erinevaid kõrge väärtusega komponente, mille kasumlikuks eraldamiseks on tarvis rohkem uuringuid ja katseid. Mõned käesolevaski töös toodud suunad on väga paljulubavad ja vajavad edasist uurimist.

<i>Karbi osa</i>	<i>Nimetus</i>	<i>Rakendus</i>	<i>Eelised</i>	<i>Perspektiiv</i>
Karbi kest	Kaltsiumkarbamiid	Ehitusmaterjalid, farmaatsia, toidulisandid, plasti tootmine, loomasööt, väetised. Katalüsaator kõrge temperatuuriga reaktsioonidele - rohelise kütuse valdkond.	Kõrge temperatuuritaluvus	Kõrvalsaadusena kõrge, kui kuluefektiivne eraldamine on võimalik
	Nanosuurusega CaCO ₃ pulber	Luude regenereerimine (farmaatsia), tellingute tootmine (ehitusmaterjalid)		Kõrvalsaadusena kõrge, kui kuluefektiivne eraldamine on võimalik
	Kaltsium oksiid (lubi)	Ehitusmaterjalid, farmaatsia, toidulisandid, plasti tootmine, loomasööt		Kõrvalsaadusena kõrge, kui kuluefektiivne eraldamine on võimalik
	Pigmendid (karotenoidid, melaniin ja tetrapürroolid)	Värvainena toidu ja keemiatööstuses	Kõrge puhtusaste	Kõrvalsaadusena kõrge, kui kuluefektiivne eraldamine on võimalik
Karbiliha	Lipiidid	Farmaatsia, toiduainetööstus, toidulisandid põletikuvastase toimega	Kõrge Omega 3, Omega 6 ja tõestatud põletiku alandav toime	Teoreetiliselt kõrge, aga praktiliselt vähe uuritud
	Kõrge molekulmassiga valgud	Farmaatsia, toiduainetööstus, toidulisandid põletikuvastase toimega	Jätkusuutlik ja keskkonnasõbralik tootmine. Madal süsinikujalajalg	Kõrge, vajalik uurida meetodeid ja tuvastada kuluefektiivsed ja skaleeritavad lahendused
	Madala molekulmassiga valgud - ensüümid	Säilitusained toiduaine-, farmaatsiatööstuses. Markeritena farmaatsias. Kõrge termostabiilsuse tõttu kasutatav kõrgetel temperatuuridel töötlemisel toidutööstuses	Kõrge stabiilsus ja lai funktsionaalsus	Teoreetiliselt kõrge, aga praktiliselt vähe uuritud
	Süsivesikud - Glükogeen,	Farmaatsia, toiduainetööstus, .		Väike osakaal üldmassis ja liigne energiamahukus teeb tootmise ebamõistlikuks
Büssusniidid	Kollageen	Farmaatsia, kosmeetika	Kõrge sulamistemperatuur ja resistentsus hapetele ja denaturaatidele	Väike osakaal üldmassis ja liigne energiamahukus teeb tootmise ebamõistlikuks
Karbi vedelik	Hüpotauriin	Farmaatsia, kosmeetika	Muidu utiliseeritava kõrvalproduktiooni kõrglisaväärtuslik kasutamine	Majanduslik mõttekus vajab valideerimist
	Inhibeerivad peptiidid	Farmaatsia - hüpertensiooni ravi		Kuluefektiivsus uurimata
	Antioksidantsed ja põletikuvastased peptiidid	Farmaatsia		Kuluefektiivsus uurimata

Teoreetilises plaanis on kõrge lisandväärtusega saadusi palju. Kõige optimaalsem viis saada maksimaalne tulu on kombineerida erinevaid meetodeid nii, et oleks rakendus nii karbilihale kui kestale.

Soolase veega piirkondades, kus karbikasvatus on levinud, ei ole liigselt tarvis väärindamisele mõelda, sest värskelt toidulauale müües on karp väärtuslik toode ja tema eest saab ka optimaalse hinna. Piirkondades, kus vee soolsus on madal, eelkõige Läänemeres, ei ole kasvatus jätkusuutlik, kuna puuduvad väljundid saadava biomassi realiseerimiseks mõistliku hinna eest. Rohkem on vaja uuringuid erinevate karbi komponentide ekstraheerimise ja tööstusliku rakendamise kohta.

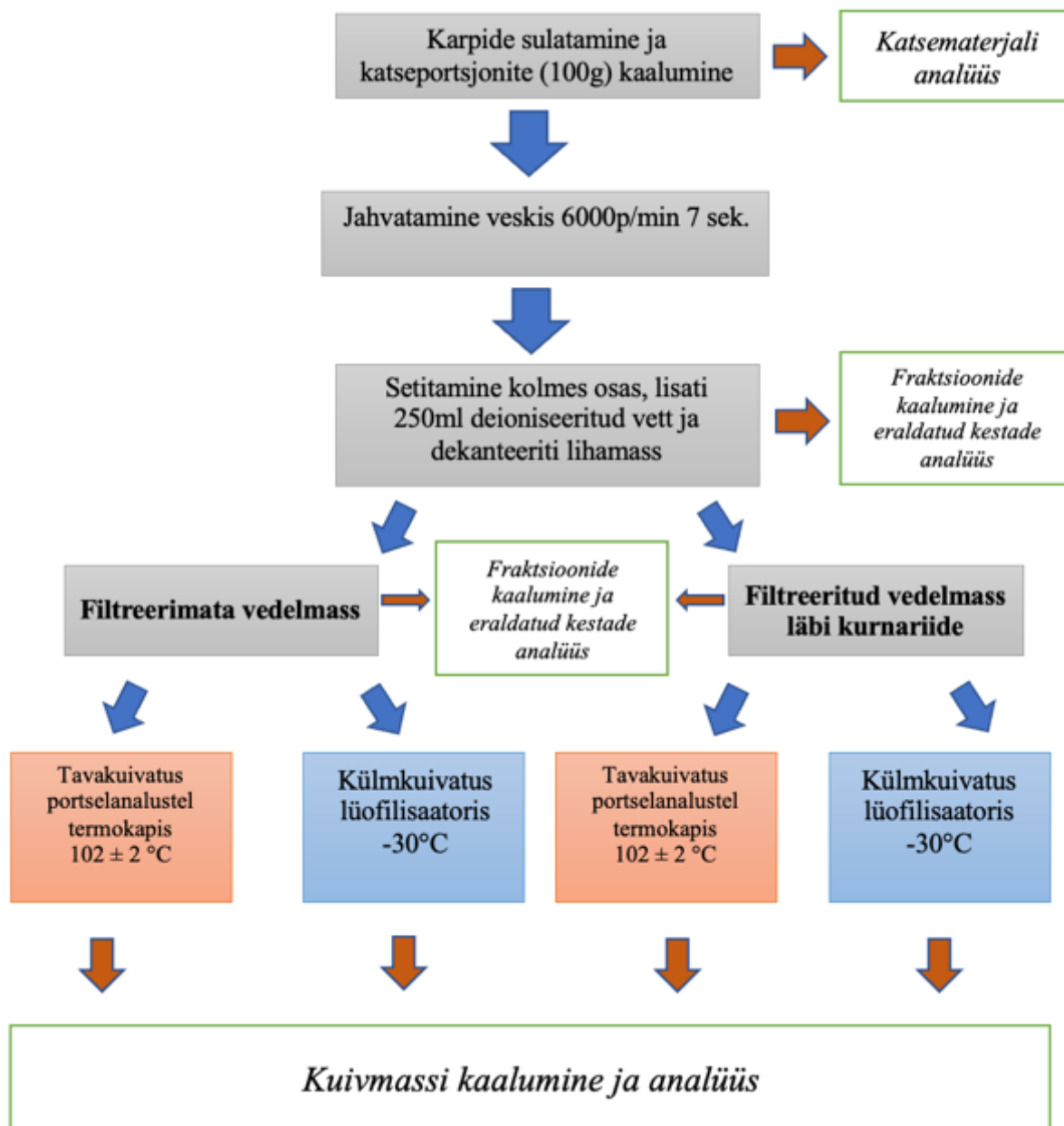
2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1. Katsetel kasutatav tooraine

Katseteks kasutati Läänemeres kasvanud rannakarpi *Mytilus edulis* ja *M. trossolus* hübriidi. Uurimistööks vajaminev materjal korjati Saaremaalt, Tagalahes (58.45644N, 22.05452E) asuvast karbifarmist 23.09.2020. a. Materjali korjas Eesti Mereinstituudi asedirektor Jonne Kotta. Materjal koguti rannakarbi kasvuvõrkudelt sügavusvahemikus 0-3 meetrit. Korje toimus sukeldudes ja käsitsi karpe võrgult eemaldades. Karbid korjati erinevatelt sügavustelt ja erinevatest asukohtadest võrgul, et tagada võimalikult lai valim. Korje ajaks olid rannakarbid võrkudel kasvanud poolteist aastat. Pärast korjet pakiti karbid 300-grammiste partiidena kilekottidesse, märgistati ja paigutati vahetult korje järel külmakasti. Külmakast transporditi Tallinnasse ja sügavkülmutati TÜ Mereinstituudi Tallinna esinduses temperatuuril -18 °C. Seejärel transporditi karbid külmakastis Eesti Maaülikooli VLI toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia laborisse, kus säilitamine toimus temperatuuril -18 °C kuni katse toimumise päevani.

2.2. Katseskeem

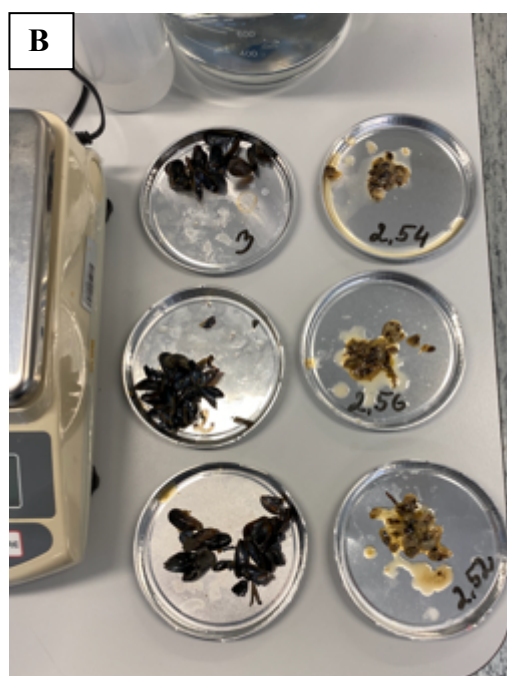
Katse viidi läbi Eesti Maaülikooli VLI toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia laboris kahes osas (joonis 4). Esimesel katsepäeval (16.02.2021) viidi katsed läbi filtreerimata toorainega nii kuumkuivatus- kui külmkuivatusmeetodil, korrates iga katset kolm korda. Teisel katsepäeval (22.02.2021) viidi katsed läbi filtreeritud toormaterjaliga, samuti nii kuumkuivatus- kui külmkuivatusmeetodil ja kolmes korduses. Kokku viidi läbi 12 katse kordust. Katseaja teisel päeval katsetati vedela lihamassi filtreerimist, et hinnata, kas liigse vedeliku eemaldamine enne kuivatust võiks omada majanduslikku eelist ehk kas filtreeritud lihamassi suurem kontsentreeritus ja seega väiksem potentsiaalne kuivatamiseks kuluv energiakulu kompenseeriks kuivmassi, mis filtreerimisel välja uhutakse.



Joonis 4. Kuivaine eraldamise katseskeem. (Autori koostatud)

2.2.1 Katsematerjali analüüs

Enne katse alustamist võeti kontrollproovid, et mõõta valgusisaldust puhtas karbilihas ja kaltsiumi sisaldust karbi kestas. Selleks eraldati kolm partiid rannakarpe, 10 grammi iga partii. Karpidest eraldati rannakarbi liha pintsettide abil. Liha ja kestad asetati eraldi alustele ja kaaluti aluste kaupa. Seejärel mõõdeti karbilihas kuivaine, valgu, tuha ja kaltsiumi sisaldus ja karbi kestades kuivaine, tuha ja kaltsiumi sisaldus. Mõõdetud väärtused said referentsväärtusteks hilisemas faasis mehaaniliselt eraldatud karbimassi kuivaine, valgu- ja kaltsiumisisalduse ning eraldamise meetoodika efektiivsuse hindamisel.



Joonis 5. Kontrollproovid sorteeritult (A) ja pärast liha ja kesta eraldamist (B)

2.2.2 Katse ettevalmistus

Mõlemal katsepäeval kaaluti esmalt välja proovide korduste kogused. Igaks katse korduseks kaaluti ca 100 g rannakarpe (joonis 6). Karbid valiti juhuslikult, et valim esindaks keskmist võimalikult täpselt. Katse huvides eemaldati karpidelt tõruvähid, et tulemus näitaks vaid karbi enda massi. Kaalumiseks kasutati 0.001 g täpsusega Kern FCB 15K5N kaalu. Kaalutised kaaluti võimalikult lähedale sajale grammile.



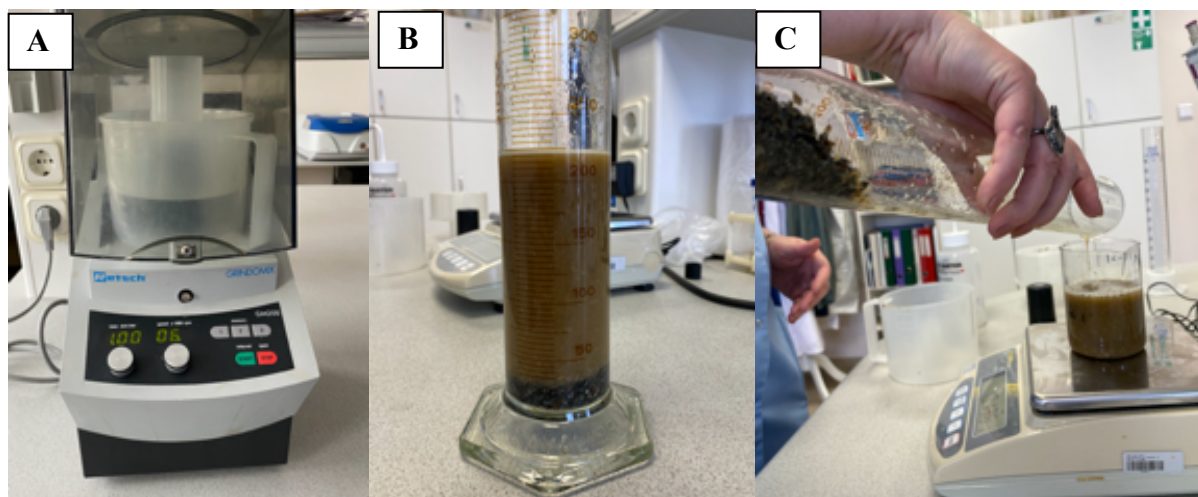
Joonis 6. Väljakaalutud 100 grammi rannakarpe valmis purustamiseks

2.2.3 Karbi purustamine ja lihamassi eraldamine

Kaalutud proovid purustati Grindomix GM200 homogenisaatoriga (joonis 7). Purustamiseks valiti kiirus 6000 pööret minutis vahemikus 7-9 sekundit. Visuaalselt hinnates tundus 7-9 sekundit piisav, et eraldada liha karbi kestast, jättes seejuures karbi kesta fraktsioon selliseks, mis ei ole liialt peen. Purustatud mass pesti seejärel veskest välja labori mensuuri, jälgides, et materjali saaks mensuuri maksimaalselt ja kadu oleks võimalikult väike.

Katse eel otsustati lisada iga 100 g karbimassi kohta 250 ml deioniseeritud vett. Vesi lisati kolmes osas, setitades igal korral kestad ja valades pealt vedela lihamassi. Karbi kestad on raskemad kui liha ja settivad kiiresti, seega iga setitamisprotsess võttis aega vaid mõned sekundid.

Joonis 7 A näitab veskit ja karpide purustamise faasi. Pildil B on veskest väljapestud purustatud karbimass, kuhu on lisatud esimese setitamise jaoks deioniseeritud vesi. Pilt C visualiseerib dekanteerimise protsessi, kus vees segunenud liha eraldatakse kestadest.



Joonis 7. Karbimassi purustamine (A), setitamine (B) ja dekanteerimine (C)

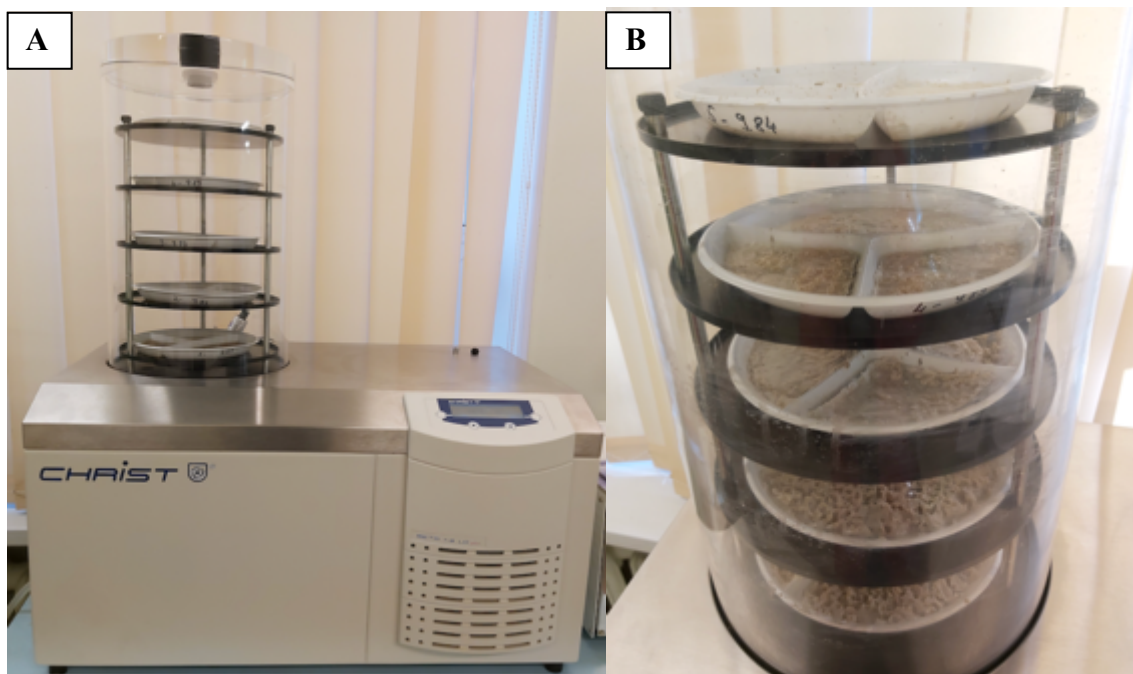
2.2.4 Filtreerimata lihamassi kuivatamine

Kuumkuivatuseks mõeldud setitatud lihamassi proovid valati portselanalustele ning kuivatati termokapis (Binder GmbH mudel ED-56, joonis 8) temperatuuril 102 ± 2 °C ca 5 tundi, seejärel oli vedelik täielikult eemaldatud. Ühe korduse vedelmass jaotati võrdselt kahe portselantassi vahel. Ühe tassi kuivmassist võeti kuivaineproov ja teisest valgusisaldus. Kokku andis see kolme korduse peale nii kuivainele kui valgule kolm referentsipunkti.



Joonis 8. Filtreerimata proovid Binder ED-56 termokapis

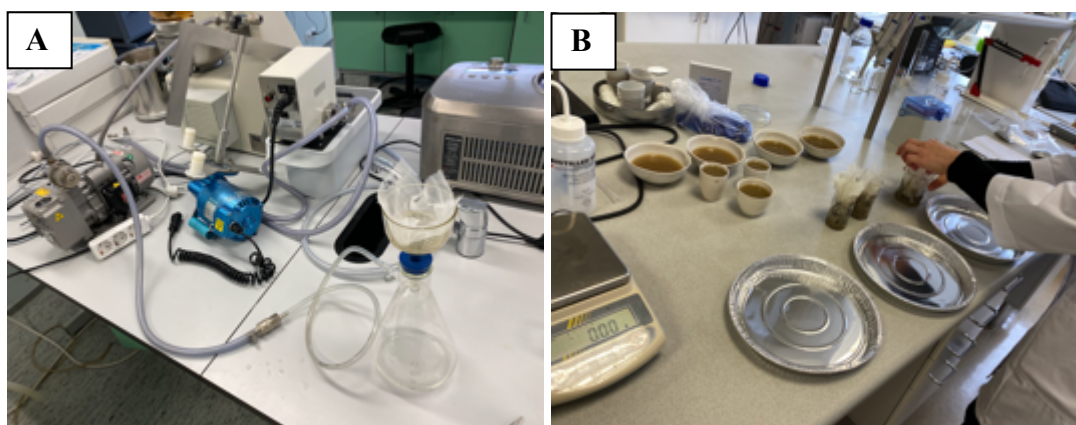
Külmkuivatuseks mõeldud filtreerimata lihamassi proovid valati võrdselt kuuele plastalusele. Plastalused valiti vältimaks kuivanud materjali liigset kinnitumist anuma külge. Kuigi valitud plastalus ei välistanud probleemi täielikult, siis oli materjali kleepumine selgelt väiksem, kui oleks seda paberanuma puhul. Külmkuivatuseks ettevalmistatud alused koos proovidega külmutati ja säilitati kuni lüofiliseerimiseni $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Ühe katsekorduse kohta valiti kaks proovialust ning kuivatati EMÜ VLI sööda ja ainevahetuse uurimise labori külmkuivatis (Christ mudel Beta 1-8 LSCbasic). Külmkuivatuse programm oli valitud vastavalt kasutusjuhendile ja kuivatatavale materjalile. Kokku kulus kuivatusele 26 tundi. Kuivatus toimus kahes etapis. Esimeses etapis toimus põhikuivatus temperatuuril $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja sellele kulus 24 tundi. Seejärel teostati järelkuivatus temperatuuril $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ rõhu juures 1,9 mbar. Järelkuivatusele kulus 2 tundi. Esimesel külmkuivatusel, kus olid alused nr 1, 2, 3, 4 ja 5, jäi kogemata vaakumpumba soojendusfaas sisse lülitamata, mille tõttu lendus alustelt osa kuivatusmassist vastu kuivatusmasina kaant. Seetõttu ei ole kaalutised kõige õigemad. Tulemuste analüüsi faasis võeti juhtunut arvesse.



Joonis 9. Filtreerimata proovid Christ Beta 1-8 LDplus külmuivatis üldvaates (A), lähivaates (B)

2.2.5 Filtreerimine

Katse teisel päeval katsetati vedela lihamassi filtreerimist. Filtreerimiseks kasutati kurnariiet tihedusega 100 μm . Kurnariie asetati Bunseni kolvile (joonis 10), ning liigne vesi eemaldati vaakumi abil. Filtreeritud mass asetati koos kurnariidega alusele. Kurnariie ja alus kaaluti enne filtreerimist. Seejärel kuivatati filtreeritud mass samade meetoditega kui filtreerimata mass.



Joonis 10. Filtreerimine Bunseni kolviga (A), filtreeritud massi kuivatuseks ettevalmistamine (B)

2.3. Keemilised analüüsid

Käesoleva katse käigus analüüsiti seitsme proovipartii kuivainesisaldus, tuhasisaldus, valgusisaldus, kaltsiumisisaldus, tuhasisaldus kuivaines, valgusisaldus kuivaines ja kaltsiumisisaldus kuivaines (tabel 3). Analüüside paremaks teostamiseks jagati proov mitmeks osaks, et saaks analüüsida erinevaid parameetreid – valku, kaltsiumi, tuhka. Kui proov on juba tuhastatud, siis valgusisalduse mõõtmiseks seda materjali kasutada ei saa.

Tabel 3. Proovipartiide keemilised analüüsid

	Käsitsi eraldatud karbiliha	Käsitsi eraldatud karbi kestad	Karbimass (purustatud kestad + liha)	Dekanteeritud lihamass	Dekanteerimise järgne kestopuru	Filtreeritud lihamass	Filtreerimise järgne jääkvesi
Kuivaine sisaldus	x	x	x	x	x	x	x
Tuha sisaldus	x	x	x	x	x	x	x
Valgu sisaldus	x		x	x	x	x	x
Kaltsiumi sisaldus	x	x	x	x	x	x	x
Tuha sisaldus kuivaines	x	x	x	x	x	x	x
Valgu sisaldus kuivaines	x		x	x	x	x	x
Kaltsiumi sisaldus kuivaines	x	x	x	x	x	x	x

2.3.1 Tuhasisalduse määramine

Katsete käigus kogutud proovide kuivaine- ja tuhasisaldused määrati gravimeetrilisel teel, kuivatades esmalt proovi termokapis 102 ± 2 °C juures konstantse kaaluni ning seejärel mineraliseeriti 5 tundi muhvelahjus 540-550 °C juures, vastavalt EVS-ISO 1442:1999 ja ISO 936:1998 standardile (Meat and meat products – Determination of total ash). EMÜ toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laboris.

2.3.2 Kaltsiumisisalduse määramine

Kaltsiumisisaldused määrati vastavalt EN 16943:2017 standardile aatomabsorptsioon spektromeetrilisel meetodil, kasutades aatomabsorptsioon-spektromeetrit ContrAA® 700 (Analytic Jena AG). Analüüsid teostati EMÜ VLI toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laboris.

2.3.3 Valgusisalduse määramine

Valgusisaldus määrati Kjeldahli meetodil proovi kuumutamisel kontsentreeritud väävelhappega temperatuuril 360–410 °C. See reaktsioon lagundab proovis sisalduvad orgaanilised ained oksüdeerimise teel, eraldades ammoniumsulfaadina redutseeritud lämmastiku. Valgusisalduse analüüsid teostati osaliselt EMÜ toiduteaduse ja toiduainete tehnoloogia õppetooli laborites ja osaliselt EMÜ VLI söötmisteaduse õppetooli laboris.

2.4. Statistiline analüüs

Erineva töötamise efekti testiti dispersioonanalüüsiga. Uuritavateks tunnusteks kuivmassi kaal ja valgu protsent kuivmassis ning faktoriteks filtreerimine (2 taset) ja kuivatus (2 taset). Paarikaupa faktorite tasemete mõju võrdlusteks kasutati Tukey järelteste. Olulisuse nivooks võeti 0,05. Andmeanalüüs viidi läbi statistikaprogrammis R AOV abil (R Core Team, 2020).

3. TULEMUSED JA ARUTELU

3.1. Rannakarbi koostis

Rannakarpide keemiliste analüüside tulemused näitasid, et katses kasutatud rannakarbi konsistents erines mõnevõrra kesta, liha ja vedeliku osas Naik *et al.* (2019) toodud andmetest (tabel 4). Erinevused võisid olla tingitud sellest, et varasemad teabeallikais kirjeldatud katsed olid tehtud *Mytilus edulise* liigiga, kuid käesolev katse *Mytilus edulis* ja *M. trossolus* hübriidiga. Samuti on erinevad keskkonnatingimused ning sellest tulenevalt ka rannakarbi keemiline koostis. Kuna Naik *et al.* 2019 uuring tehti soolasemas keskkonnas, siis sellest tuleneb ka kestade osakaal saagikuses. Oluline on märkida, et käesolevas katses kasutatud karbid olid kogutud sügisel, mil karpide lihamassi osakaal on suurim. Naik *et al.* 2019 katses oli kasutatud kevadisi karpe, mis viitab, et sesoonsusel on mõju rannakarbi konsistentsile.

Tabel 4. *Mytilus edulis* koostis Naik *et al.* (2019) andmetel ja *Mytilus edulis/trossolus* käesolevas katses

	<i>Mytilus edulis</i> (Naik <i>et al.</i> 2019)	<i>Mytilus edulis/trossolus</i> (käesolev katse)	Erinevus
Kest	70%	48,69%	-21,31%
Liha	20%	35,21%	15,21%
Vedelik	10%	16,09%	6,09%

Läänemere madalama soolsuse tõttu on siin kasvavad karbid oluliselt õhema kestaga (Bøhle 1972, Seed 1968), milles väljendub ka kesta oluliselt väiksem osakaal rannakarbi kogukaalus võrreldes soolases vees kasvanud karbiga, kus kest moodustab 70-80% karbi kaalust (Naik *et al.*, 2019). Samas tähendab see ka proportsionaalselt muude karbi koostisosade suuremat osakaalu kogukaalus. Antud katse ja Läänemeres kasvava rannakarbi kasvatus kontekstis on see positiivne leid, kuna kuivaine osakaal lihamassi märgmassist on suurem, kui kirjanduse põhjal oleks võinud eeldada.

3.1.1. Rannakarbi liha proteiini-, tuha- ja kaltsiumisisaldus

Analüüsitud rannakarbi liha valgusisaldus (54,8%) sarnanes Naik *et al.* (2019) töös toodud tulemustele (58,7%) (tabel 5). Valgusisaldus oli *Mytilus edulis/trossolus* hübriidliigi lihal vaid 3,9 protsendi võrra madalam kui *Mytilus edulis* lihal (Naik *et al.*, 2019), samas tuha osakaal erines vaid 1,37%, olles käesoleva töö tulemuse põhjal väiksem (10,43%) (tabel 5). Suurema

lihasaagisega rannakarpide väiksem valgusisaldus lihamassis võib tuleneda süsivesikute suuremast osakaalust. Kirjanduse andmetel on süsivesikute osakaal 22,5% karbi lihas olevast massist (Naik *et al.*, 2019). Antud katse käigus süsivesinike sisaldust ei mõõdetud, seega puudub numbriline võrdlus kirjanduses tooduga.

Tabel 5. Liha konsistents *Mytilus edulis* Naik *et al.* (2019) andmetel ja *Mytilus edulis/trossolus* käesolevas katses

	<i>Mytilus edulis</i> (Naik <i>et al.</i> 2019)	<i>Mytilus edulis/trossolus</i> (käesolev katse)	Erinevus
Valgud	58,7%	54,80%	-3,90%
Tuhk	11,8%	10,43%	-1,37%
Kaltsium	n/a	1,94%	

Katse käigus analüüsiti liha kaltsiumisisaldust, kuna katse käigus jahvatatud kesta puru jäi vähesel määral ka eraldatud lihamassi. Kaltsiumisisaldus oli liha märgmassist 1,94%, mis on väga väike kogus.

3.1.2. Rannakarbi kesta kaltsiumisisaldus

Kirjanduse põhjal koosnevad *Mytilus trossuluse* kestad kahest kaltsiumkarbonaadi polümorfist: kaltsiidist ja aragoniidist, kusjuures domineerivaks vormiks on kaltsiit (Cohen *et al.*, 1992). CaCO_3 polümorfide valik võib sõltuda temperatuurist, aragoniidi sadestumisest kõrgel temperatuuril ja kaltsiidi sadestamisest madalal temperatuuril (Cohen *et al.*, 1992). Lowenstam (1954) näitas, et subtroopilistes ja troopilistes tingimustes elavad *Mytiluse* liikide kestad võivad koosneda 100% aragoniidist. *Mytiluse* liigid, kes elavad keskmisel temperatuuril ca 22 °C, omavad domineeriva aragoniidi sisaldusega kesta, madalamatel temperatuuridel domineerib aga koorekompositsioonis peamiselt kaltsiit (Cohen *et al.*, 1992). Parasvöötmes elava *Mytilus trossuluse* kõrgeim aragoniidi sisaldus on 49,6% (Cohen *et al.*, 1992).

Käesoleva katse tulemusel oli rannakarbi kesta kaltsiumisisaldus 224g/kg. Soolases vees mõõdetud *Mytilus edulise* kesta aga kaks korda kõrgem (Naik *et al.*, 2019). Läänemeres kasvava rannakarbi kesta väiksem kaltsiumisisaldus on tingitud madalamast veesoolsusest. Soolsus vähendab kaltsiumi ja anorgaanilise süsiniku kättesaadavust merevees, mille tõttu on Läänemerd asustavatel rannakarpidel sageli õhukesed, väikesed ja haprad kestad (Arivalagan

et al., 2020). Kui Läänemere rannakarbid viia soolasesse keskkonda, siis kasvavad nad suuremaks, mis näitab, et lubjastumise määr ja koore maksimaalne suurus sõltub keskkonnast (Kautsky et al., 1990). Läänemere üks silmapaistvamaid omadusi on see, et rannakarbid toituvad kiskjad, näiteks meritäht *Asterias rubens* ja vähk *Carcinus maenas*, puuduvad Läänemere < 10 psu soolsusega piirkondades täielikult. Kisklussurve puudumine on ka üheks põhjuseks, miks rannakarbi morfoloogia Läänemeres ja suurema soolsusega meredes erinevad. Läänemeres väheneb rannakarpide kaitsevõime ning siinsetele loomadele on iseloomulikud nõrgad adduktorlihased ja õhemad kestad (Reimer ja Harms-Ringdahl, 2001).

3.2. Filtreerimata rannakarbi lihast valmistatud proteiinipulbri koostis

3.2.1. Tulemused kuumkuivatuse meetodil

Analüüsides selgus, et valgu osakaal kuivaines on 44,27% (tabel 6). Kuumkuivatusmeetodil õnnestus puhast valku eraldada 9,17 grammi, mis on 3,05% rannakarbi märgmassist (tabel 6).

Tabel 6. Filtreerimata karbimassi kuivaine ja valgusisaldus kuumkuivatuse korral

Filtreerimata kuumkuivatusega	Kaalutis grammi	Kuivaine sisaldus %	Valgu sisaldus %	Puhast valku grammi	Puhta valgu osakaal
Karpide märgkaal	100,18	6,89%	4,98%	9,17	3,05%
Setitatud lihamass	292,82	2,36%	6,32%		
Kestapuru peale setitamist	45,47	56,74%	4,74%		
Lihamass peale kuivatust	6,91	100,00%	44,27%		

3.2.2 Tulemused külmuivatuse meetodil

Kylmuivatuse tulemused on toodud tabelis 7. Võrreldes kuumkuivatusmeetodiga (tabel 6) on näha suuremat lihamassi kuivaine osakaalu. See vahe võib tuleneda kuivatuse meetodikast, aga ka paremast karbiliha välja setitamisest. Märgmassist saadi kätte 3,62% puhast proteiini. Võrreldes kuumkuivatusega on vahe 20% kylmuivatuse kasuks.

Tabel 7. Filtreerimata karbimassi kuivaine ja valgusisaldus kylmuivatuse meetodil

Filtreerimata kylmuivatusega	Kaalutis grammi	Kuivaine sisaldus %	Valgu sisaldus %	Puhast valku grammi	Puhta valgu osakaal
Karpide märgkaal	100,20	8,19%	4,98%	10,88	3,62%
Setitatud lihamass	301,99	2,72%	6,32%		
Kestapuru peale setitamist	43,26	56,74%	4,74%		
Lihamass peale kuivatust	8,21	100,00%	44,18%		

Märkimisväärselt suur on kestade hulka jäänud valgu kogus (4,74% märgmassist) (tabel 7), grammidesse arvestatuna on valgu kadu 4,83 g. Kasutatud metoodika täiendamisel on võimalik saavutada väiksem valgu kadu, leides efektiivsemat setitamise viisi, mis aitaks kaasa suuremale lihamassi väljatulekule. Kuumkuivatusega võrreldes näitab katse, et külmuivatus on 20% efektiivsem kui kuumkuivatus.

Kylmuivatustehnikat eelistavad paljud tööstusharud, sealhulgas mullatööstus, toiduainetööstus, kuna arvatakse, et külmuivatamine kaitseb proovi esmast struktuuri ja kuju, vähendades samas labiilse aminohappe muutmise ohtu (Ray ja Kothmann, 1988; Ratti, 2001). Kylmuivatamist tuleks eelistada kuumkuivatusele, kui on oluline värv ja antioksüdantide ja vitamiinide säilivus, mis on kuumuse suhtes tundlikud, ehkki aja (kuivamise kestus), kulude ja praktilisuse seisukohast on käesoleva töö kontekstis kuumkuivatus ökonoomsem.

3.3. Filtreeritud rannakarbi lihast valmistatud proteiinipulbri koostis

Filtreeritud lihamassi kuivaine keskmine kaalutis oli 2,2 grammi (tabel 8). Protsentuaalselt on tulemuseks 0,93% puhast valku (tabel 8), mis on vaid 30% filtreerimata katsel saadud tulemusest. Seega filtreeriti välja lisaks veele ka 70% proteiini. Liigveest võetud analüüside tulemused näitavad kuivaine sisaldust 1,58%, milles omakorda 39,8% valku (4,83 g), mis on rohkem, kui lihamassi kuivatamisest saadi. Kestapuru hulka jäänud valgu kogus on 5,71 grammi, mis on võrreldes filtreerimata meetodiga üle kahe korra suurem.

Tabel 8. Filtreeritud karbimassi kuivaine ja valgusisalduse analüüs kuumkuivatuse korral.

Filtreeritult kuumkuivatusega	Kaalutis grammi	Kuivaine sisaldus %	Valgu sisaldus %	Puhast valku grammi	Puhta valgu osakaal
Karpide märgkaal	100,20	2,20%	4,98%	2,78	0,93%
Filtreeritud lihamass	45,07	4,89%	6,32%		
Liigvesi	256,15	1,58%	39,80%		
Kestapuru peale setitamist	40,20	56,74%	4,74%		
Lihamass peale kuivatust	2,20	100,00%	42,10%		

Kui võrrelda kesta sette koguseid, siis need on väiksemad kui kuumkuivatuse korral. Filtreeritud lihamassi kogused on aga keskmiselt 37% võrra väiksemad, kuid kõrvutades neid kuivmassi tulemusega on tegemist efektiivsema filtreerimisega. Külmuivatusega ekstraheeriti valku 1,72% karbi märgmassist (tabel 9).

Tabel 9. Filtreeritud karbimassi kuivaine ja valgusisaldus külmuivatuse korral

Filtreeritult külmuivatusega	Kaalutis grammi	Kuivaine sisaldus %	Valgu sisaldus %	Puhast valku grammi	Puhta valgu osakaal
Karpide märgkaal	100,05	3,52%	4,98%	5,17	1,72%
Filtreeritud lihamass	27,27	12,90%	6,32%		
Liigvesi	275,72	1,58%	39,80%		
Kestapuru peale setitamist	45,69	56,74%	4,74%		
Lihamass peale kuivatust	3,52	100,00%	48,99%		

Kylmuivatusega saadi kuivainet oluliselt rohkem kui kuumkuivatusega ($p=0,00002504$). Võrreldes kuumkuivatusega on valgusisaldus küll peaaegu topelt suurem, kuid jääb kaks korda alla filtreerimata külmuivatuse tulemusele. Kui liita filtreeritud massist eraldatud valgule liigvees ja kestopurus olev valk, on maksimumtulemuseks 15,71 grammi, mis on täpselt sama tulemus mis filtreerimata materjali korral.

Filtreerimise tulemusena kadus pool valgukogusest, mis saadi filtreerimata külmuivatusemeetodil. Seega ei osutu otstarbekaks kasutada filtreerimist.

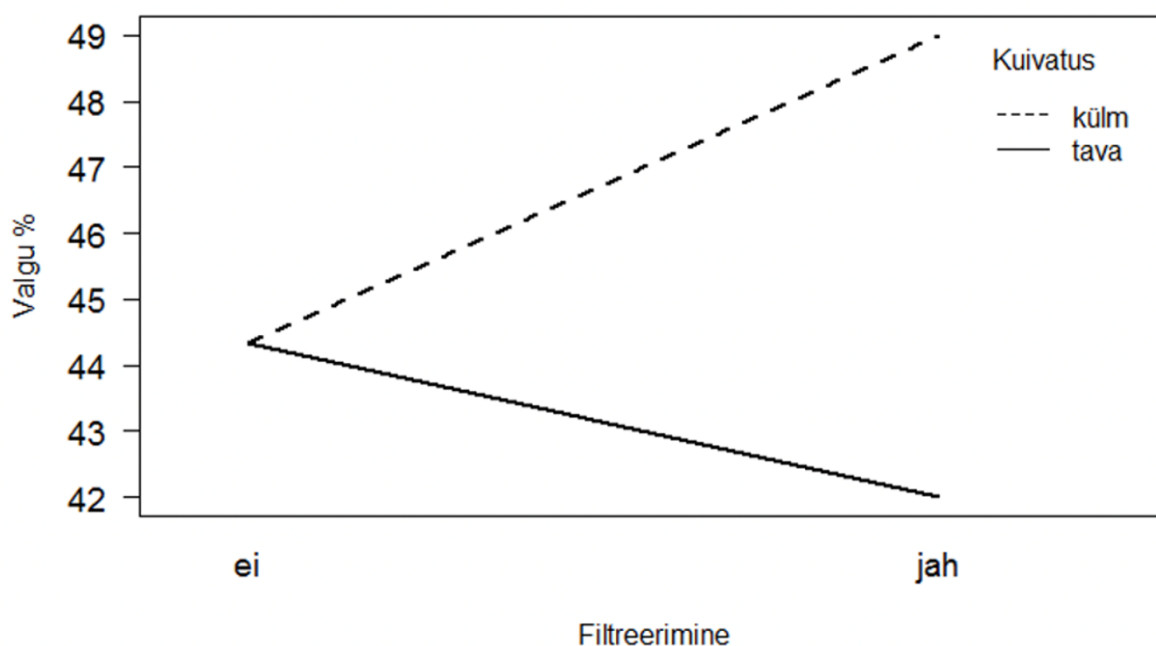
3.4. Valgu kadu dekanteerimisel ja filtreerimisel

Dekanteerimise järel õnnestus peale kuivatust saada keskmiselt 7,14 grammi kuivmassi ja 3,16 grammi valku. Valgusisaldus märgmassis on 50% madalam, võrreldes käsitsi eraldatud karbilihaga (tabel 10). Filtreerimise tulemusena kahanes kuivmassi ja valgu kogus veelgi. Kõikide proovide keskmisena õnnestus peale filtreerimist saada vaid 2,86 grammi kuivmassi. Puhta valgu koguseks teeb see 1,3 grammi valku. See on vaid 20% valgust, mis saadi käsitsi eraldatud karbilihast. Tervelt kolmandik valgust ehk keskmiselt 2,07 grammi on setitatud kestopuru valgusisaldus. Lisaks jäi filtreerimise jääkvette 1,6 grammi valku, mis on neljandik kogu karbi lihas leiduvast valgust. Jääkvees sisalduv valgukogus on oluliselt, 23,8% suurem kui filtreeritud lihamassis (tabel 10).

Tabel 10. Kuivmassi ja valgu sisaldus erinevate valgu eraldusprotsesside lõikes

	Märgkaal		Kuivmass		Valk kuivmassis	
	%	grammi	%	grammi	%	grammi
Käsitsi eraldatud puhas liha	10,06%	35,21	12,53%	4,41	6,32%	6,32
Filtreerimata dekanteeritud lihamass	86,30%	302,05	2,36%	7,14	44,23%	3,16
Kestapuru	12,47%	43,66	56,74%	24,77	4,74%	2,07
Filtreeritud dekanteeritud lihamass	10,66%	37,33	4,40%	2,86	45,55%	1,30
Filtreerimise liigvesi	73,19%	256,15	1,58%	4,05	39,80%	1,61

Olulist erinevat vahet valgu kogusele ($p=0,113$) (joonis 10) filtreerimise ja eri kuivatusmeetodite mõjus ei olnud.



Joonis 10. Filtreerimise ning külm- ja kuumkuivatuse mõju valgu kogusele.

Käesoleva katse kontekstis olid kaod suured ja potentsiaalselt madalam energiakulu kuivatamisel ei kompenseeri kaotatud valku. Lisaks pikendab filtreerimisprotsess valgu eraldamise protsessi, muutes selle majanduslikult kulukamaks.

Käesoleva katse kontekstis ekstraheeriti dekanteerimisega 50% valgust (tabel 11), mis esineb karbilihas.

Tabel 11. Valgu kadu erinevates valgu eraldusprotsesside etappides

	Puhas liha	Dekanteerimine	Filtreerimine
Maksimaalne potentsiaalne valgu kogus 100 grammis	6,32g	5,23g	4,98g
Ekstraheeritud valgukogus 100 grammis katsematerjalis	6,32g	3,16g	1,30g
Valgu kadu	0%	50%	21%

Filtreerimisega õnnestus käesoleva katse tingimustes eraldada 21% kogu potentsiaalselt karbilihas olevast valgust. Dekanteerimise tulemusel jäi valk karbipuru hulka. Filtreerimisel jäi valku lisaks karbipurule ka jääkvette. Jääkvees sisalduva valgu kogus annab alust arvata, et karbis sisalduv kuivaine on peene fraktsiooniga ja filtreerimiseks on tarvis leida efektiivsem viis. Kindlasti saab efektiivsemaks muuta dekanterimisprotsessi ja suurendada seeläbi purustatud karbimassist välja uhutava kuivaine ja valgu kogust.

Inimtoiduks kasutataval rannakarbilihasst proteiinipulbril võiks olla kordi kõrgem väärtus kui looma või linnutoiduks töödeldaval tootel. Turunduslikult saaks müüa karbiliha, kasutades rohelist proteiini argumenti. See aitab ka tarbijale õigustada kõrgemat väärtust ja müüjal küsida kõrgemat hinda. Teiseks argumendiks on karbiliha põletikuvastane toime, mis teeb karbiproteiinist potentsiaalselt atraktiivse komponendi näiteks spordijookidele ja sportlastele mõeldud proteiinipulbritele. Edasist uurimist vajaks puhastatud proteiinipulbri tootmine ja selle toote brändimine ning turustamine. Samuti vajaks uurimist kõrgväärtuslike komponentide eraldamine karbilihasst. Kirjanduse andmetel leidub karbilihas palju väärtuslikke komponente, kuid uurimata on nende eraldamise mõttekus.

Karbikasvatus on roheline vesiviljelus, millel puuduvad teadaolevalt keskkonda koormavad mõjud. Karbid filtreerivad vett, eemaldades toitaineid ja seeläbi puhastades keskkonda. Läänemeri, mis erinevatel hinnangutel on üks enim eutrofeerunud veekogu maailmas, vajab keskkonnakoormuse vähendamist. Karbikasvatusega on võimalik eemaldada nii Läänemerele juba akumulunud toitaineid kui ka kompenseerida näiteks kalakasvatuse poolt väljutatavat saastet. Karbikasvatuse ainus keskkonda koormav moment on kasvusubstraat ehk kõied, mis on toodetud plastist. Kui lahendada kasvusubstraadiga seotud probleem ehk asendada

plastipõhine kasvusubstraat loodusliku materjaliga, siis on kadunud ka viimane keskkonda koormav mõju. Rannakarbist saadava proteiini puhul on tegemist jätkusuutliku ja rohelise proteiiniga, mille saamiseks ei koormata keskkonda, vaid parandatakse seda. Tarbija muutub keskkonnateadlikumaks ja toidutootjatel on surve kasutada rohelisemaid tehnoloogiaid ja alternatiivset biomassi.

Alternatiivsete valkude eelised on selged - tervislikum toit, madalamad süsinikdioksiidiheited ja vähem muret intensiivse loomakasvatuse eetika pärast. Aastaks 2035 hõivavad alternatiivsed valgud suure tõenäosusega 11% ülemaailmsest valguturust, kuna tarbijad, ettevõtted ja investorid suruvad ESG – (*environmental, social and corporate governance*) väärtusi ja mahu kasvades saavutatakse ka hinnapariteet. Tehnoloogilise innovatsiooni ja riiklike regulatsioonide toel võivad alternatiivsed valgud 2035. aastaks hõivata kuni 22% kogu globaalsest valguturust (BCG, BCH, 2021). Ehkki parima stsenaariumi korral peavad sektori kõik kolm sammast - taimne, rakupõhine ja kääritamine - jõudma hinnapariteedini, viitavad teadlaste konservatiivsed hinnangud endiselt alternatiivsetele valkudele, mis hõivavad alustuseks üle kümnendiku turust, kus Aasia ja Vaikse ookeani piirkonnas domineerib nõudluse kasv (BCG, BCH, 2021).

3.5. Rannakarbi majanduslik potentsiaal

Läänemere tingimustes kasvatatud rannakarp annab saaki 3,3 kg meetri kõie kohta (BBG, 2019). Keskmiselt on võimalik toota meetri kõie kohta 249,5 grammi kuivainet 45%-lise proteiinisaldusega. Sankt Anna karbifarm asub neljal hektaril ning kogu kasvusubstraadi (kõie) kogupikkus oli 24 000 meetrit. Kogu farmi saak oli 76 tonni rannakarpi märgmassis. Kui töödelda see käesolevas töös katsetatud meetodil kuivaineiks, oleks saaduseks 5,74 tonni kuivainet 45 protsendilise proteiinisaldusega, mis teeb 2,58 tonni puhast proteiini.

Inimtoiduks müümiseks peaks karbi suurus ületama 4 cm, sellistel karpidel on müügihinnaks 0.7-2.5 EUR/kg. Kuna Läänemere madalama soolsusega aladel kasvavad karbid vaid 1-3 cm suuruseks, siis need sobivad kasutamiseks näiteks söödana või väetiseks, ent ka veest liigsete toitainete eemaldamiseks (st keskkonnakaitse eesmärkidel). Väiksemate karpide puhul jääb potentsiaalset müügihinda lähiajal ilmselt dikteerima muudest allikatest pärit kalatoit.

Arendamisjärgus on küll ka tehnoloogiaid uudsete materjalide saamiseks, mis eeldavad esmalt kestade eraldamist lihamassist või ensüümidega töötlemist.

Tuues paralleele lähiriikidega, siis nt 2016. aasta seisuga oli kogu Rootsi merekarbitoodang ca 2000 tonni aastas, ometi võiks söödana olla nõudlust kuni 66 000 tonni järele (juhul kui asendada praegu kasutatav kalatoit). Teisalt, kui vaatame karbikasvatust kui liigsete toitainete sidujat mereveest, siis juhul kui see oleks teistest fosfori sidumise meetodikatest (ja toitainete merre laskmise piiramisest) soodsam, võiks näiteks Rootsi idaranniku arhipelaagides kasvatada merekarpe 22 000 tonni aastas. See tähendaks ca 550 Sankt Anna sarnast karbikasvatust. Lisaboonusena seotaks seeläbi ka ca 220 tonni lämmastikku (Minnhagen *et al.*, 2019). Varasemates analüüsides on leitud, et näiteks Rootsi idaranniku kontekstis on merekarbikasvatus potentsiaalseks alternatiiviks, kui muude toitainete eemaldamise võimaluste hind hakkab ületama 350-500 EUR/kg P (Dahlgren *et al.*, 2015).

Läänemere piirkonnas on esitatud andmete põhjal söödakvaliteediga karbi hind vahemikus 0-58 senti/kg, st esimesel juhul on tegu üksnes keskkonnamõju vähendamise eesmärgil rajatud kasvatusena, kus karbid antakse tasuta ära ja tulu tuleb vaid kalakasvatusest. Esimeste Eesti pilootide jaoks tehtud kalkulatsioonide põhjal võiks karbisööda eest saadav tulu olla ligikaudu 40-50 senti/kg. Kuigi loomasööda turg on rahvusvaheline ja lisaks teistele karbikasvandustele on konkurentideks ka teistest toormetest (sh väheväärtuslikust kalast, jääkidest ja kõrvalproduktidest) loomasööda tootjad, siis kohapeal toodetaval karbisöödal võiks olla mitmeid võimalusi konkurentsieelise saavutamiseks.

4. KOKKUVÕTE JA JÄRELDUSED

Käesoleva töö eesmärk oli anda teoreetiline ülevaade rannakarbi kasvatamise ja väärindamise võimalustest ja välja töötada söödava rannakarbi biomassist saadava kuivmassi eraldamise meetodika, mis oleks toiduainetetööstuses rakendatav ja majanduslikult tasuv. Käesolev töö annab ülevaate rannakarbi eri komponentide võimalustest ja meetodikatest, mida rakendatakse nii toiduaine- kui farmaatsiatööstuses.

Katsete tulemusel selgus, et kuivmassi eraldamine värskest või külmutatud karbist on lihtsate vahenditega teostatav. Lihtsa purustamise ja setitamisega õnnestus eraldada märkimisväärne kogus kuivainet, mille valgusisaldus on kõrge. Ühtlasi sai selgeks, et filtreerimise kasutamine ei ole otstarbekas põhjusel, et valgukadu on erakordselt suur. Lisaks teeb filtreerimine kuivaine eraldamise protsessi keerukamaks ja kulukamaks, mida kuivatamisel säästetud energiakulu tõenäoliselt ei kompenseeri. Selle kinnituseks oleks vaja edaspidi täpne energiakulu välja selgitada.

Kuum- ja külmuivatusmeetodite võrdluses osutus oluliselt efektiivsemaks külmuivatusmeetod, mille tulemusel oli valgu osakaal proovis viiendiku võrra suurem. Külmuivatamine säilitab värvuse ja välimuse, minimeerides samal ajal kuumatundlike toitainete termilisi kahjustusi. Kirjandusele tuginedes on külmuivatus soovitatav valik, kui ekstraheeritakse komponente, mille puhul on tarvis säilitada bioaktiivsus. Külmuivatuse miinuseks võib kujuneda selle suhteliselt kõrge maksumus. Vajalik oleks edasistes uuringutes selgitada külmuivatusega seonduvat kulu ja võrrelda seda kuumkuivatuse kuluga.

Katse käigus õnnestus leida lihtne meetod, mis oleks töönduslikult rakendatav ja ei vaja ülemäära keerulist ja kallist masinaparki. Karbiliha on kerge kaaluga ja vajub veesambas aeglaselt, samas, kui kestad vajuvad kiiresti. See aitas lihtsa setitamisega eraldada olulise koguse karbilihast. Samas on võimalik tehnoloogiat parandada ning efektiivistada kuivaine eraldamise tulemuslikkust veelgi.

Dekanteerimise ja filtreerimise võrdluses selgus, et filtreerimisega kaotati suures osas valku, mida energiasääst kuivatuseprotsessil tõenäoliselt ei kompenseeri. Selle väite tõestuseks tuleks energiakulu lähemalt uurida.

Karbimassi töönduslikuks väärindamiseks tuleks kasutada ära nii jääkmaterjal kui eraldatud kuivmass. Optimaalseima lahenduse leidmiseks tuleb aga edasi uurida kuivaine väärindamise ja tootearenduse võimalusi. Eraldatud kestapuru võimalikud rakendused on linnutoit, mida on Rootsis põhjalikult uuritud.

Rannakarbi kasvupotentsiaali ja levikut on laialdaselt uuritud ja tema kasvuvõimekus on hästi tõestatud. Ometi piirab rannakarbi viljeluse levikut oskusteabe ja saagi väärindamise tehnoloogiate puudumine. Eraldatud kestavaba lihamassi saab puhastada ja ette valmistada kõrge lisandväärtusega komponentide tootmiseks. Peamiselt näeb autor siin toiduainetööstust ja ka tervisetööstust. Üheks paljulubavaks rakenduseks on sportlastele suunatud proteiinijoogid. Samuti võiks karbi proteiinipulber kasutust leida kastmetes, maitseainetes, valmistoitudes ja puljongites. Rannakarbil on ka potentsiaali farmaatsiatööstuses, kuid erinevate väärtuslike komponentide eraldamine ja tootmise kuluefektiivsus vajab veel edasisi uuringuid ja tasuvusanalüüse.

Kõrvalsaadusena jääb karbist 43,65% karbipuru, mis on valdavalt kest, kuid sisaldab 4,74% valku. Jahvatamisjärgne peenfraktsioon ja valgusisaldus teeb materjalist potentsiaalse linnutoidu allika.

Lähiaastatel on oodata nõudluse kasvu alternatiivsete proteiiniallikate järele, mis seab rannakarbi kasvatamisele ja väärindamisele uusi võimalusi. Edasist uurimist vajab kuivmassist valgu eraldamine puhastatud proteiinipulbri või siis näiteks puljongipulbri tootmiseks. Lisaks valgule sisaldab rannakarp palju teisi aineid, mida saaks kasutada farmaatsiatööstuses ning mille eraldamise õnnestumisel suureneks rannakarbi lisandväärtus veelgi. Käesolevas töös kasutati meetodit, mis oleks kuluefektiivne ja rakendatav ka tööstuslikult, ilma eriaparatuuri kasutamata. Meetodit tuleb edasi arendada selliselt, et pärast suurema karbi kesta koguse dekanteerimist jääks karbi kesta puru hulka võimalikult vähe lihamassi, mis suurendaks eraldatud valgu kogust. Samuti tuleb uurida lihamassi kuivatamise tehnikaid. Käesoleva katse käigus ei mõõdetud kuivatamise aega kuumkuivatusmeetodil, kuid tõenäoliselt on võimalik saavutada kiirem kuivatuse aeg, kui antud katse käigus rakendati.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Allam B, P. P.** (1998). Defence factors in mussel extrapallial fluids. *Diseases of Aquatic Organisms*, 33, 123–128.
- Allocati N., Masulli M., Di Ilio C., Federici L.** (2018). Glutathione transferases: Substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7, 8.
- Arivalagan J., Marie B., Chiappetta G., Vinh J., Gallet X., Lebon M., M'Zoudi S., Dubois P, Berland S., Marie A.** (2020). Deciphering shell proteome within different Baltic populations of mytilid mussels illustrates important local variability and potential consequences in the context of changing marine conditions. *Science of the Total Environment*. 748, 140878
- Avdelas L., Avdic E., Borges A., Cano S., Capelle J., Carvalho N, Cozzolino M., et al.** (2020). The decline of mussel aquaculture in the European Union: causes, economic impacts and opportunities. *Reviews in Aquaculture*, 1–28
- BBG** <https://www.submarinernetwork.eu/balticbluegrowth>
- Bhunja K., Ovissipour M., Rasco B., Tang J., Sablani S. S.** (2017). Oxidation-reduction potential and lipid oxidation in ready-to-eat blue mussels in red sauce: Criteria for package design. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 324–332.
- Böhle B** (1972) Effects of adaptation to reduced salinity on filtration activity and growth of mussels (*Mytilus edulis* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 10: 41-47
- Both A., Parrish C. C., Penney R. W., Thompson R. J.** (2011). Lipid composition of *Mytilus edulis* reared on organic waste from a *Gadus morhua* aquaculture facility. *Aquatic Living Resources*, 24, 295–301.
- Boyjoo Y., Pareek V. K., Liu J.** (2014). Synthesis of micro and nano-sized calcium carbonate particles and their applications. *Journal of Materials Chemistry*, 2, 14270–14288.
- Bongiorno T., Iacumin L., Tubaro F., Marcuzzo E., Sensidoni A., Tulli, F.** (2015). Seasonal changes in technological and nutritional quality of *Mytilus galloprovincialis* from suspended culture in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Food Chemistry*, 173, 355–362.
- Buasri A., Chaiyut N., Loryuenyong V., Worawanitchaphong P., Trongyong S.** (2013). Calcium oxide derived from waste shells of mussel, cockle, and scallop as the heterogeneous catalyst for biodiesel production. *Scientific World Journal*, 2013 460923.
- Campbell, S. A.** (1970). The carotenoid pigments of *mytilus edulis* and *mytilus californianus*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 32, 97–115.
- Castro R.O., Silva M.L., Marques M.R.C. de Araújo F. V.** (2016). Evaluation of microplastics in Jurujuba Cove, Niterói, RJ, Brazil, an area of mussels farming. *Marine Pollution Bulletin*, 110 (1): 555-558.

- Catchpole, O. J., Tallon, S. J., Eltringham, W. E., Grey, J. B., Fenton, K. A., Vagi, E. M., et al.** (2009). The extraction and fractionation of specialty lipids using near critical fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 47, 591–597.
- Chang T-S.** 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Science* 10(6):2440–75.
- Chen B., Peng X., Wang J. G., Wu X.** (2004). Laminated microstructure of Bivalva shell and research of biomimetic ceramic/polymer composite. *Ceramics International*, 30, 2011–2014.
- Cohen L., Parkington J., Brundrit G., van der Merwe N.** (1992). A Holocene marine climate record in mollusc shells from the Southwest African coast. *Quaternary Research*, vol. 38, Issue 3, pp 379-385.
- CORDIS**, [veebileht] <https://cordis.europa.eu/article/id/413319-new-emff-project-biogears-launched-to-develop-biobased-ropes-for-aquaculture/> (23.04.2021)
- Dai Z.-Y., Zhang Y.-P., Zhang H., Lu Y.-B.** (2012). Preparation and characterization of mussel (*Mytilus Edulis*) protein hydrolysates with angiotensin-I-converting enzyme (ace) inhibitory activity by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 66–74.
- Dare P. J., Edwards D. B.** (1975). Seasonal changes in flesh weight and biochemical composition of mussels (*Mytilus Edulis L.*) in the Conwy Estuary, North Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 18, 89–97.
- Dhawan S., Kaur J.** (2007). Microbial mannanases: An overview of production and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27, 197–216.
- Doggrell S. A.** (2011). Lyprinol-is it a useful anti-inflammatory agent? *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2011 307121.
- Douglas J., Koo M. Z., Irshad H., Chaudry P. W.** (2000). Plasma α -Glutathione S-transferase. *Archives of Surgery*, 135, 198–203.
- Eggermont M., Cornillie P., Dierick M., Adriaens D., Nevejan N., Bossier P., Van den Broeck W., Sorgeloos P., Defoirdt T. & Declercq A.M.** (2020). The blue mussel inside: 3D visualization and description of the vascular-related anatomy of *Mytilus edulis* to unravel hemolymph extraction. *Scientific Reports* vol. 10, Article number: 6773
- FAO, FISHERIES AND AQUACULTURE.** 2017- Microplastics in fisheries and aquaculture
- FAO, GLOBEFISH.** 2021- Information and Analysis on World Fish Trade, (<http://www.fao.org/in-action/globefish/fishery-information/resourcedetail/en/c/338588/>)
- Food for thought. The Protein Transformation. (2021). Uuringu aruanne. Boston Scientific Group, Blue Horizon. 43 lk.
- Fernandez A., Grienke U., Soler-Vila A., Guiheneuf F., Stengel D. B., Tasdemir D.** (2015). Seasonal and geographical variations in the biochemical composition of the blue mussel (*Mytilus edulis L.*) from Ireland. *Food Chemistry*, 177, 43–52.

- Gallardi D., Mills T., Donnet S., Parrish C. C., Murray H. M.** (2017). Condition and biochemical profile of blue mussels (*Mytilus edulis* L.) cultured at different depths in a cold water coastal environment. *Journal of Sea Research*, 126, 37–45.
- Gianfranceschi G. L., Gianfranceschi G., Quassinti L., Bramucci M.** (2018). Biochemical requirements of bioactive peptides for nutraceutical efficacy. *Journal of Functional Foods*, 47, 252–263.
- Grupo Calvo.** (2009) www.calvo.es.
- Guillena J., Ascheb F., Carvalho N., Fernández Polancod J.M., Llorented I., Nielsene R., Nielsene M., Villasantef S.,** (2019). Aquaculture subsidies in the European Union: Evolution, impact and future potential for growth. *Marine Policy*, Issue 104, pp 19-28
- Gutiérrez JL, Jones CG, Strayer DL and Iribarne OO** (2003) Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos* 101:79–90
- Hamester M. R. R., Balzer P. S., Becker D.** (2012). Characterization of calcium carbonate obtained from oyster and mussel shells and incorporation in polypropylene. *Materials Research*, 15 no 2
- Hedegaard C., Bardeau O., Chateigner, D.** (2006). Molluscan shell pigments: An in situ resonance Raman study. *Journal of Molluscan Studies*, 72, 157–162. *Materials Research*, 15, 204–208.
- Heinemann A., Fietzke J., Melzner F., Böhm F., Thomsen J., Garbe-Schönberg C., Eisenhauer A.,** (2012). Seawater carbonate chemistry and conditions of *Mytilus edulis* extracellular body fluids and shell composition in a pH-treatment experiment: Acid-base status, trace elements and $\delta^{11}\text{B}$. PANGAEA, <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.778194>,
- Hellen T., Mesquita-Guimarães J., Henriques B., Silva F., Fredel M.** (2019). The potential use of oyster shell waste in new value-added by-product, *Resources* Vol. 8.
- Intermas.** [veebileht], <https://www.intermas.com/our-activities/aquaculture/mussel-farming/cocoropes.html>/(23.04.2021)
- Iribarren D., Moreira M.T., Feijoo G.** (2010). Implementing by-product management into the Life Cycle Assessment of the mussel sector. *Conservation and Recycling*, 54, 1219–1230
- Jönsson, Lotta.** (2009). Mussel Meal in Poultry Diets – with Focus on Organic Production. Doktoritöö. Uppsala ülikool, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management. Uppsala. 57lk
- Kamermans P., Brummelhuis E., Dedert M.** (2013). Effect of algae- and silt concentration on clearance- and growth rate of the razor mussel *Ensis directus*, Conrad. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 446, pp. 102-109
- Karen J., Murphy B. D. M., Mann N. J., Nichols P. D., Sinclair A. J.** (2002). Lipid,

- FA, and sterol composition of New Zealand green lipped mussel (*Perna canaliculus*) and tasmanian blue mussel (*Mytilus edulis*). *Lipids*, 37, 587–595.
- Kautsky N.** (1982) Growth and size structure in a baltic *Mytilus edulis* population. *Marine Biology* 68: 117-133
- Kautsky H., and van der Maarel E.** (1990) Multivariate approaches to the variation in phytobenthic communities and environmental vectors in the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 60: 169-184
- Kijewski T., Zbawicka M., Strand J., Kautsky H., Kotta J., Rätsep M., Wenne R.** (2019) Random forest assessment of correlation between environmental factors and genetic differentiation of populations: Case of marine mussels *Mytilus*. *Oceanologia*, 61, 131–142.
- Kluytmans J. H., Boot J. H., Oudejans R. C. H. M., & Zandee D. I.** (1985). Fatty acid synthesis in relation to gametogenesis in the mussel *Mytilus edulis* L. *Comparative Biochemistry & Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 81, 959–963.
- Kotta J., Futter M., Kaasik A., Liversage K., Rätsep M., Barboza F.R., Bergström L., Bergström P., Bobsien I., Díaz E., Herkül K., Jonsson P.R., Korpinen S., Kraufvelin P., Krost P., Lindahl O., et al.** (2020) Cleaning up seas using blue growth initiatives: Mussel farming for eutrophication control in the Baltic Sea. *Science of Total Environment* vol. 709, 136144.
- Labarta U., Fernández-Reiriz M. J.** (2019). The Galician mussel industry: Innovation and changes in the last forty years. *Ocean & Coastal Management* 167:208-218
- Lin H., Zhang J., B. C. H., Xu, J. C.** (2003). Seasonal changes in phospholipids of mussel (*Mytilus edulis* Linne). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 133–135.
- Lindqvist, H. M., Gjertsson, I., Eneljung, T., & Winkvist, A.** (2018). Influence of blue mussel (*Mytilus edulis*) intake on disease activity in female patients with rheumatoid arthritis: The MIRA randomized cross-over dietary intervention. *Nutrients*, 10.
- Linné, C. von** (1758), *Systema naturae per regna tria naturae :secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. 824
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N.** (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4, 118–126.
- Loctier, D.**, (2021), <https://www.euronews.com/2021/04/27/alternatives-to-plastic-help-lower-pollution-in-the-oceans> (29.04.2021)
- Lowenstam H., Weiner S.** (1954). On Biomineralization. Oxford University press, p. 214-215
- Marin M., Legros L., Poret A., Leboulenger F., LeFoll F.** (2004). Cell responses to xenobiotics: Comparison of MCF7 multi-drug- and mussel blood cell multi-xenobiotic-defense mechanisms. *Marine Environmental Research*, Vol. 58, Issues 2–5, pp. 209-213.
- Mathalon, A. & Hill, P.** (2014). Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Marine Pollution Bulletin*, 81(1): 69-79.

- Matheson, N. K., & B. V. M** (1985). The polysaccharides, Vol. 3. New York: Academic Press.
- Mora, L., & Hayes, M.** (2015). Cardioprotective cryptides derived from fish and other food sources: Generation, application, and future markets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 1319–1331.
- Murphy K., Mann B., Nichols N., Sinclair A. J.** (2002). Lipid, FA, and sterol composition of New Zealand green lipped mussel (*Perna canaliculus*) and tasmanian blue mussel (*Mytilus edulis*). *Lipids*, 37, 587–595.
- Naik A.S, Hayes M.** (2019). Bioprocessing of mussel by-products for value added ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, Vol 92 pp 111-121
- Newsome, A., Culver, C., & van Breemen, R.** (2014). Nature's palette: The search for natural blue colorants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 62.
- Olsen, Ø. M., Nilsen, I. W., Sletten, K., & Myrnes, B.** (2003). Multiple invertebrate lysozymes in blue mussel (*Mytilus edulis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 136, 107–115.
- Oms-Oliu G, Rojas-Grau MA, Gonza'lez LA, Varela P, Soliva-Fortuny R, Hernando MIH, Munuera IP, Fiszman S, Martin-Belloso O.** 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology* 57(3): 139–48.
- Outeiro L., Byron C., Angelini R.,** (2018). Ecosystem maturity as a proxy of mussel aquaculture carrying capacity in Ria de Arousa (NW Spain): A food web modeling perspective. *Aquaculture* vol. 496, pp. 270-284.
- Ovissipour, M., Rasco, B., Tang, J., & Sablani, S. S.** (2013). Kinetics of quality changes in whole blue mussel (*Mytilus edulis*) during pasteurization. *Food Research International*, 53, 141–148.
- Qiao M., Tu M., Wang Z., Mao F., Chen H., Qin L., et al.** (2018). Identification and antithrombotic activity of peptides from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 19.
- Pakhomov V., Braginets S., Bakhchevnikov O., Rudoy D.** (2020). *Engineering for Rural Development*, 2020, 19:306-312
- Park S. Y., Ahn C.-B., & Je J.-Y.** (2014). Antioxidant and anti-inflammatory activities of protein hydrolysates from *Mytilus Edulis* and ultrafiltration membrane fractions. *Journal of Food Biochemistry*, 38, 460–468.
- Park S. Y., Kim Y.-S., Ahn C.-B., & Je J.-Y.** (2016). Partial purification and identification of three antioxidant peptides with hepatoprotective effects from blue mussel (*Mytilus edulis*) hydrolysate by peptic hydrolysis. *Journal of Functional Foods*, 20, 88–95.
- Patrick J., Fitzpatrick T. B. K., Peter Hojrup & David, S.** (1995). Characterization of a

- glutathione S-transferase and a related glutathione-binding protein from gill of the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Journal of Biochemistry*, 305, 145–150.
- Piferrer F., Beaumont A., Falguiere J-C., Flaišhans M., Pierrick H., Colombo L., (2009).**
Polyploid fish and mussel: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*, Volume 293, Issues 3–4, 16, Pages 125-156
- Piwoni-Piorewicz A., Kuklinski P., Strekopytov S., Humphreys-Williams E., Najorka J., Iglukowska A. (2017).** Size effect on the mineralogy and chemistry of *Mytilus trossulus* shells from the southern Baltic Sea: implications for environmental monitoring. Published online 2017 Mar 30. doi: 10.1007/s10661-017-5901-y
- Prins TC, Smaal AC and Dame RF (1998)** A review of the feedbacks between bivalve grazing and ecosystem processes. *Aquatic Ecology* 31: 349–359
- Reimer O., Harms-Ringdahl S. (2001)** Predator-inducible changes in blue mussels from the predator-free Baltic Sea. *Marine Biology*, volume 139, pages 959–965
- Results from Baltic Blue Growth project's mussel farms and way forward for mussel farming in the Baltic Sea. (2019). Uuringu aruanne. Baltic Blue Growth. 44 lk.
- R Core Team (2020).** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Riisgård H.U., Larsen P.S., Turja R. and Lundgreen K. (2014).** Dwarfism of blue mussels in the low saline Baltic Sea—growth to the lower salinity limit. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 517 pp. 181-192
- Rodriguez N., Das S., Kaufman Y., Israelachvili J, Waite H. (2015).** Interfacial pH during mussel adhesive plaque formation. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research Volume* 31, Issue 2
- Schulbach Kurt F., Johnson Jodie V., Simonne Amarat H., Kim Jeong-Mok, Jeong Yoonhwa, Yagiz Yavuz, and Marshall Maurice R. (2013).** Polyphenol Oxidase Inhibitor from Blue Mussel (*Mytilus edulis*) Extract. *Journal of Food Science*, Vol. 78, Nr. 3, pp.425-341
- Seed R (1968)** Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *Journal of the Marine Biology Association UK* 48: 561-584
- Sikora, M., Świeca, M., Franczyk, M., Jakubczyk, A., Bochnak, J., & Zlotek, U. (2019).**
Biochemical properties of polyphenol oxidases from ready-to-eat Lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts and factors affecting their activities: A search for potent tools limiting enzymatic browning. *Foods*, 8, 154.
- Silverman, H. G., & Roberto, F. F. (2007).** Understanding marine mussel adhesion. *Marine Biotechnology*, 9, 661–681.
- Singh, S., Shankar, R., Singh, G. P. (2017).** Prevalence and associated risk factors of

- hypertension: A cross-sectional study in urban Varanasi. *International Journal of Hypertension*, 2017 5491838-5491838.
- Stemmer, K., Nehrke, G.** (2014). The distribution of polyenes in the shell of arctica islandica from North atlantic localities: A confocal Raman microscopy study. *Journal of Molluscan Studies*, 80, 365–370.
- Theoudorou J.A., James R., Tagalis J., Tzivenis I., Hellio C., Katselis G.** (2017) Density and size structure of the endangered fan mussel *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758), in the shallow water zone of Maliakos Gulf, Greece. *Acta Adriaticae*, 58(1): 63 - 76,
- Vareltzis, P. K., & Undeland, I.** (2012). Protein isolation from blue mussels (*Mytilus edulis*) using an acid and alkaline solubilisation technique—process characteristics and functionality of the isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 3055–3064.
- Villasante S., Macho G., Antelo M., Gonzales D., Kaiser M.,** (2013). Resilience and Challenges of Marine Social–Ecological Systems Under Complex and Interconnected Drivers. *AMBIO*, 42:905–909.
- Voltsiadou E., Koutsoubas D.,** (2010). Bivalve mollusc exploitation in Mediterranean coastal communities: An historical approach. *Journal of Biological Research* 13:35-45.
- Wang B., Li L., Chi C. F., Ma J. H., Luo H. Y., & Xu Y. F.** (2013). Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 138, 1713–1719.
- Wei D., Zhang H., Cai L., Guo J., Wang Y., Ji, L., et al.** (2018). Calcined mussel shell powder (CMSP) via modification with surfactants: Application for antistatic oil-removal, Vol. 11 *Materials* (Basel).
- Wenne R., Kuklinski P., Árnýasi M., Zbawicka M., Bach I., Strelkov P., Gantsevich M., Kijewski T., McDonald J.H., Sundsaasen K.K., Lien S., Kaasik A., Herkül K., and Kotta J.** (2020). Trans-Atlantic Distribution and Introgression as Inferred from Single Nucleotide Polymorphism: Mussels *Mytilus* and Environmental Factors. *Genes*, 11, 530
- Wilbur KM** (1972) Shell formation in mollusks. In: Chemical Zoology. Florkin M and Scheer BT (Eds.), Vol. 2: Mollusca, Academic Press, London
- Williams, S. T.** (2017). Molluscan shell colour. *Biological Reviews*, 92, 1039–1058.
- Xu B., Stalbrand H., Janson J.** (2002). endo-1,4-Mannanases from blue mussel, *Mytilus edulis*: purification, characterization, and mode of action. *Journal of Biotechnology*, 92, 267–277.
- Yu C., Cha Y., Wu F., Fan W., Xu X., & Du M.** (2018). Effects of ball-milling treatment on mussel (*Mytilus edulis*) protein: Structure, functional properties and in vitro di-gestibility. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 683–691.
- Yu C., Cha Y., Wu F., Xu X., Qin Y., Li X., et al.** (2018). Effects of high-pressure

- homogenisation on structural and functional properties of mussel (*Mytilus edulis*) protein isolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 1157–1165.
- Yu C., Wu F., Cha Y., Qin Y., & Du M.** (2018). Effects of ultrasound on structure and functional properties of mussel (*Mytilus edulis*) protein isolates. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13690.
- Zhang C., & Zhang R.** (2006). Matrix proteins in the outer shells of molluscs. *Marine Biotechnology*, 8, 572–586.
- Zhou X., Zhou D. Y., Liu Z. Y., Yin F. W., Liu Z. Q., Li D. Y., et al.** (2019). Hydrolysis and oxidation of lipids in mussel *Mytilus edulis* during cold storage. *Food Chemistry*, 272, 109–116.

VALORIZATION OF BIOMASS FROM BLUE MUSSEL (*Mytilus edulis/trossulus* L.) CULTIVATED IN THE BALTIC SEA

Summary

The aim of this work was to provide a theoretical overview of the possibilities of mussel cultivation and refining and to develop a methodology for the extraction of dry mass from edible mussel biomass that would be applicable and economically viable for the food industry. The present work provides an overview of the components that could be extracted from mussels and the methods that could be used to extract them. There are applications in both the food and pharmaceutical industries.

Experiments have shown that the separation of dry matter from fresh or frozen shellfish can be achieved by simple means. By simple crushing and sedimentation, it was possible to extract a significant amount of dry matter with a high protein content. It also became clear that the use of filtration is not practical because the protein loss is extremely high. In addition, filtration makes the process of dry matter separation more complex and costly, which is unlikely to be compensated by the energy saved in drying. To confirm this, it would be necessary in the future to determine the exact energy consumption.

A comparison of drying methods showed that freeze drying is statistically more efficient and the results showed an average improvement of one fifth. Freeze-drying preserves colour and appearance while minimising thermal damage to heat-sensitive nutrients. Based on the literature, freeze-drying is a desirable option when extracting components where bioactivity needs to be preserved. The disadvantage of freeze drying may be its relatively high cost. Further studies would need to clarify the costs associated with freeze drying and compare them with those of heat drying.

The experiment resulted in a simple method that could be operationally feasible without the need for overly complex and expensive machinery. Mussel meat is light and sinks slowly in the water column, while the shells sink quickly. This helped to separate a significant amount of the mussel meat by simple sedimentation. However, the technology can be improved and the dry matter separation performance further improved.

A comparison of decantation and filtration showed that filtration resulted in a large loss of protein, which is unlikely to be compensated by energy savings in the drying process. To prove this claim, the energy consumption should be further investigated.

Both the residual material and the extracted dry matter should be used for the industrial refining of the mussel pulp. However, the possibilities for dry matter refining and product development need to be further investigated to find the optimal solution. Possible applications of the separated shell fraction are poultry feed, which has been extensively studied in Sweden.

The growth potential and distribution of mussels have been extensively studied and their growth potential is well established. However, the expansion of mussel cultivation is limited by a lack of know-how and harvesting technologies. Separated MSM can be purified and prepared for the production of high value-added components. The author sees this mainly as a food industry and also a health industry. One promising application is protein drinks for athletes. Mussel protein powder could also be used in sauces, condiments, ready meals and broths. Mussels also have potential in the pharmaceutical industry, but the extraction of the different valuable components and the cost-effectiveness of production still need further research and cost-benefit analysis.

As a by-product, 43.65% of the shell remains as shell fragments, which are predominantly shell but contain 4.74% protein. The fine fraction and protein content after milling makes the material a potential source of bird feed.

The present work is the first serious study on the processing of mussels for human consumption. In the coming years, an increase in the demand for alternative protein is expected, which mussels will fulfil perfectly. An additional exciting feature is the anti-inflammatory properties, which make mussel protein a suitable component for both fitness and dietary supplements. Further research would be needed to create a specific component from dry matter, towards a purified protein powder or, for example, towards a powdered protein powder. Mussels also contain many components that could be used in the pharmaceutical industry and, if successfully extracted, would add even more value than food components. In the present work, a method was used that would be cost-effective and also applicable to

industrially without the use of special apparatus. The method needs to be further investigated and improved. By visually assessing the shell fraction after decanting, it would be possible to extract a larger amount of dry matter, which would prolong the settling process, but the technology could certainly improve the result. Drying techniques also need to be explored. In the present experiment, the drying time was not measured using the heat drying method. Obviously, a faster result can be achieved than 5 hours during the experiment.

**Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning
juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Indrek Adler,

sünniaeg 10.12.1977,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö

Läänemeres kasvatatud söödava rannakarbi (*Mytilus edulis/trossulus* L.) väärindamise võimalused inimtoiduks,

mille juhendaja(d) on Jonne Kotta PhD, Katrin Kaldre PhD, Ivi Jõudu PhD

1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor _____
(allkiri)

Tartu, 24.05.2021

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)
